

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

جامعة غرداية

Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie et des
Sciences de la Terre



كلية علوم الطبيعة والحياة
وعلوم الأرض

Département de Biologie

Université de Ghardaïa

قسم البيولوجيا

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
Master académique en Biologie
Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contrôle de qualité microbiologique et physicochimique du
lait de vache cru et pasteurisé dans la wilaya de Ghardaïa**

Présenté par

GOUAMID Samira
KHALFI Fatima

Membres du jury

Grade

A. MHAMDI

MCB

Président

N. BOURAS

Pr

Encadreur

B.HANSALI

Chef de service

Co-encadreur

S. BELGHIT

MCA

Examineur

A. TELLI

MAA

Examinatrice

N. HILI

Ingénieur d'état

Invité

Mai 2017

Remerciements

Au terme de ce travail, il est agréable de présenter mes remerciements les plus sincères à Monsieur Professeur BOURAS Noureddine, pour nous avoir proposé ce sujet si intéressant et nous 'avoir accepté d'encadrer et d'orienter tout au long de notre travail avec leur judicieux conseils et sa constante disponibilité, c'est grâce à sa compétence et indulgence que ce travail a pu être réalisé.

Nous remercions également Mr A. MHAMDI D'avoir acceptée la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses. Nous tenons à remercier Mr S. BELGHIT et Mlle A. TELLI Pour leur disponibilité à juger ce travail, on lui exprime notre profonde reconnaissance pour leur aide précieuse. Nous tenons ensuite à remercier Mr HANSALI, Mme HILI, pour leur aide technique, leur gentillesse et leur grande disponibilité et confiance. Nous remercions vraiment Mr HACHEMI, Mme GUEMMOUR, pour leurs judicieuses conseils, leurs chaleureux encouragements et plus particulièrement pour leurs patience durant la réalisation de ce travail.

Nous remercions Mr REZZAG Moussa aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de contrôle de qualité et la répression des fraudes Ghardaïa, et aussi le personnel Administratif et du laboratoire de l'INSFP Ghardaïa.

Nous adressons l'expression de notre vive et respectueuse gratitude à Monsieur MHAMDI, maitre assistant à l'université de Ghardaïa qui nous a fait bénéficier de son aide et de ses conseils très fructueux.

Nos remerciements vont également à Monsieur Ibn Brahim, nos enseignants qui ont nous accompagné pendant notre cursus universitaire. Nos plus vifs remerciements à nos parents, surtout notre chère maman, notre famille, et nos amis. Enfin nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces



*AU NOM D'ALLAH
LE TOUT PUISSANT, LE MISERICORDIEUX
ET SON PROPHÈTE MOUHAMMAD (P.S.L.)*

Je dédie ce modeste travail à:

Mes parents: mon trésor dans cette vie, en signe de reconnaissance de l'immense bien que vous avez fait pour moi concernant mon éducation qui abouti aujourd'hui à la réalisation de cette étude.

Recevez à travers ce travail tout ma gratitude et mes profonds sentiment, qu' Allah le tous puissant soit à vos cotés et vous accorde une meilleurs santé;

A mes adorables frères : Nacer, Mohamed lamine et mes chers sœurs : Messaouda, Djamila et Meriem.

A ma cher binome: Samira et toute sa famille;

A toutes mes chers amies proches: Khadidja B, Sara, Khadidja R, Hamida, Mabrouka, Aicha;

A tous mes enseignants ; mes collègues dans mon travail dans le laboratoire QACQE et le laboratoire de l'INSFP CHERIF Messadia Ghardaïa et à tous qui a donné part dans l'élaboration de ce travail surtout mes collègues du service de contrôle de qualité et la répression des fraudes de la direction de commerce Ghardaïa.

N'oublions pas mes chères camarades et collègues de promotion 2^{ème} Master Biochimie Appliquée je suis très heureuse de ces années passées avec vous des

liens créés et de nouvelles amitiés, ainsi que pour tous les moments passés ensemble. Merci à vous tous pour vos soutiens, vos aides et vos solidarités afin que je puisse être en ce moment de joie de festivité.



Fatima

Dédicace



A l'être le plus cher à mon cœur, à celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, à ma mère à qui je voue tous mes sentiments que son âme repose en paix.

A l'âme de mon père et l'âme de ma très chère amie Salima

A mon grand père et ma grande mère qui je les aime.

A mon frère Younes, Ibrahim, ma sœur Assia, et à tous mes oncles et mes tentes à El-Meniaa et Ouargla et toute ma famille

A ma copine Khalfi fatima.

A mes très chères amies Mabrouka et Hamida, Fatima je vous aime

A mon collègue du travail Hamel Ahmed, Kouidri Halima pour leurs aides et leurs soutiens à continuer mes études.

A mon très cher ami Hakim que dieux le bénisse.

A mes collègues de la promotion master II biochimie appliquée.



Samira

Liste des abréviations

AA: Acide Aminé.

Ac : Acide gras.

AFS : Association Française de Sociologie

BEA: Bile Esculine Azide.

BLBVB: Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant.

BP: Baird Parker.

°C: Degré Celsius.

CCS: Charge de Cellule Somatique .

CF: Coliformes fécaux.

CO₂ : Oxyde de Carbone.

CSR: Clostridium Sulfito-réducteur.

CT: Coliformes totaux.

°D: Degré Dornic.

EC: Entérocoque.

ESD: Extrait sec dégraissé.

EST: Extrait sec total.

FAO: Food and Agriculture Organization .

FTAM : Flore aérobie mésophile totale.

g: Gramme.

GA: Germes aérobie.

GLE : Gélose au Lait écrémé.

HCl: Chlorure d'hydrogène.

Ig: Immunoglobuline.

I.N.E : Institut National de l'Elevage.

JORA : Journal Officiel Algérien.

Kg: Kilogramme.

LTLT: Low Temperature Long Time.

mg : Milligramme.

MG : Matière grasse.

M.G.S : Membres de Groupes Scientifiques.

mS: Milliseimens.

N: Normalité.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

pH: Potentiel Hydrogène.

S.A : Service d'Agroélevage.

S/C: Simple Concentration.

SF: Streptocoque fécaux.

SM : Solution Mère.

Sp: Espèce.

S.B : Service de bactériologie.

TSE: Tryptophane Sel Eau.

TST: High Temperature and Short Time.

UFC: unite formant colonies.

UHT: Ultra haute température.

VF: Viande foie.

VRBL: Milieu lactosé biliée au cristal violet et au rouge neutre.

Liste des figures

Figure 1. Composition chimique du lait de différentes espèces.....	3
Figure 2. Structure d'un globule de matière grasse.....	4
Figure 3. Structure d'une sous-micelle caséique).	6
Figure 4. Diagramme de fabrication du lait pasteurisé.	18
Figure 5. Carte géographique représentant les sources des échantillons Erreur ! Signet non défini.	
Figure 6. Suspension (solution) mère et dilution décimales	29
Figure 7. Lactostar utilisé pour analyser le lait	35
Figure 8. Aspect macroscopique de FTAM sur milieu GLE	38
Figure 9. Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie du lait cru	39
Figure 10. Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie du lait pasteurisé	40
Figure 11. Aspect des colonies typiques des CT dans l'échantillon E'7.....	42
Figure 12. Aspect des résultats positif et négatif de test de confirmation des CT	42
Figure 13. Aspect des colonies typiques des coliformes fécaux	44
Figure 14. Dénombrement des coliformes fécaux dans le lait cru	44
Figure 15. Aspect des cultures des SF sur bouillon de Roth.....	46
Figure 16. Dénombrement des Streptocoques fécaux	46
Figure 17. Aspect des colonies du lait cru sur BP	48
Figure 18. Dénombrement CRS	50
Figure 19. Titration de l'acidité du lait	VII
Figure 20. Mesure de la densité du lait	VIII
Figure 21. Mesure de matière grasse du lait.....	X
Figure 22. Détermination de l'extrait sec	XIII

Liste des tableaux

Tableau I. Constituants lipidiques du lait de vache et leurs localisation.	5
Tableau II. Classification des protéines.....	8
Tableau III. Composition minérale du lait de vache.	9
Tableau IV. Caractéristiques des principaux enzymes du lait	10
Tableau V. Flore originelle du lait cru.....	20
Tableau VI. Les germes pathogènes classiquement recherchés en contrôle de qualité.....	25
Tableau VII. Résultats de dénombrement microbiologique des échantillons du lait cru.....	36
Tableau VIII. Résultats de dénombrement microbiologique des échantillons du lait pasteurisé.....	37
Tableau IX. Principaux caractères physicochimiques des laits crus.....	52
Tableau X. Principaux caractéristiques physicochimiques des laits pasteurisés	53

Résumé

WORLD

Dans le but d'évaluer la qualité du lait de vache considéré comme le plus exploitées à la production laitière destinée à la consommation humaine dans la région de Ghardaïa, sept unités de production laitières et dérivées ont été choisi pour réaliser un échantillonnage dans des conditions expérimentales d'hygiène, à raison de deux échantillons par laiterie, l'une de lait cru de collecte et l'autre du lait pasteurisé conditionné en sachet. Les germes prévus par la norme nationale algérienne ont été recherchés, des analyses physico-chimiques ont été menées en parallèle.

Les résultats obtenus à partir des laits crus et pasteurisés de sept unités ont montré des taux de protéines, de matières grasses et de lactose différents d'un lait cru à un autre et d'un lait pasteurisé à l'autre avec une valeur de pH légèrement acide et une acidité titrable de l'ordre de 16D° pour la majorité des échantillons. Les deux types du lait ont été dépourvus en germes pathogènes ayant un risque majeur sur la santé du consommateur tels que (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*). Le taux de la flore mésophile aérobie totale était variable et considérable pour la majorité des échantillons du lait cru, il a été compris entre $2,7.10^4$ et $2,0.10^8$ UFC/mL, dont uniquement deux conforment aux normes. Dans le lait pasteurisé cette charge microbienne a été diminuée après pasteurisation, mais elle a été dépassée la norme. Les coliformes fécaux, absents dans la majorité des laits pasteurisés (soit 6/7), étaient plus nombreux au niveau des laits de mélange prélevés dans les conditions habituelles d'hygiène de la ferme et ayant une charge significative allant de $0,5.10^2$ et $9,0.10^6$ UFC/mL. Les streptocoques fécaux ont été absents dans 0,1 mL pour la majorité des échantillons du lait cru soit (5/7).

Mots-clés : *Lait de vache, lait cru, lait pasteurisé, qualité microbiologique, qualité physicochimique et Ghardaïa.*

Abstract

In order to evaluate the quality of cow's milk considered a the most exploited in dairy production for human consumption in the region of Ghardaïa, seven dairy and derived production units were chosen to carry out sampling under experimental conditions Two samples per dairy, one for raw milk of collection and the other for pasteurized milk packaged in bag. The germs foreseen by the Algerian national standard were researched, physico-chemical analyzes were carried out in parallel.

The results obtained from the raw and pasteurized milk of seven units showed different levels of protein, fat and lactose from one raw milk to another and from one pasteurized milk to another with a pH value slightly acid and a titratable acidity of the order of 16D ° for the majority of the samples. Both types of milk were devoid of pathogenic germs with a major risk to consumer health such as (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*). The total aerobic mesophilic flora rate was variable and significant for the majority of samples of raw milk; it was between $2.7.10^4$ and 2.10^8 CFU / mL, of which only two meet the standards. In pasteurized milk this microbial load was decreased after pasteurization, but it was exceeded the norm. Fecal coliforms, absent in the majority (6/7) of pasteurized milks, were more numerous in the mixing milk taken under the usual hygiene conditions of the farm and with a significant load ranging from $0,5.10^2$ and 9.10^6 CFU / mL. Faecal streptococci were absent in 0.1 mL for the majority of raw milk samples (5/7).

Keywords: Cow's milk, raw milk, pasteurized milk, microbiological quality, physicochemical quality and Ghardaïa.

ملخص

بهدف تقييم الجودة والنوعية لحليب البقر الذي يعتبر الأكثر استهلاكاً في ولاية غرداية، تم اختيار سبع وحدات لإنتاج الحليب ومشتقاته حيث اخذ العينات في الشروط الصحية اللازمة لإجراء التحاليل وهذه العينات تشمل الحليب الطازج المجموع في صهاريج والحليب المبستر المعلب، كل ملبنة أخذت منها عينتين، عينة من الحليب الخام وعينة من الحليب المبستر. تم البحث عن بعض البكتيريا المتوقعة وجودها في هذين النوعين حسب المعايير الجزائرية وأرقت بتحليلات فيزيوكيميائية. بينت النتائج المتحصل عليها لعينات الحليب الخام والمبستر احتواءها على نسب متفاوتة في كميات البروتين والدهن واللاكتوز من عينة إلى أخرى مع قيمة منخفضة قليلاً لـ pH ودرجة حموضة تعادل $16 D^{\circ}$ بالنسبة لأغلب العينات. أثبتت التحاليل الميكروبيولوجية أن كلا النوعين من الحليب خال تماماً من البكتيريا الممرضة والتي تشكل خطراً على صحة المستهلك مثل *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* المحتوي الميكروبي للفلورة الهوائية المحبة لدرجة الحرارة المعتدلة كان معتبراً في أغلب عينات الحليب الخام وبنسب متفاوتة بين العينات، حيث تراوح بين $2,7.10^4$ و 2.10^8 UFC/mL ، فقط عينتين كانتا موافقتين للمعايير المطلوبة بالنسبة للحليب المبستر، هذا المحتوى تدنى قليلاً بعد البسترة لكنه مع ذلك جاوز المعايير المطلوبة. كما أثبتت التحاليل خلو أغلب عينات الحليب المبستر من بكتيريا القولون البرازية أي (7/6)، بينما كانت نسبتها مرتفعة في عينات الحليب الخام المجموع والمأخوذة في الشروط التجريبية السليمة، وقد تراوحت هذه النسبة بين $0,5.10^2$ و 9.10^6 UFC/mL بكتيريا الستربتوكوك الملوث لم تكن موجودة في 1, 0 مل من الحليب الخام في أغلب العينات أي (7/5).

كلمات دالة : حليب البقر، حليب طازج، حليب مبستر، نوعية ميكروبيولوجية، نوعية فيزيوكيميائية و غرداية.

Table des matières

Partie I : Synthèse bibliographique

Introduction	1
CHAPITRE I : Généralités sur le lait	3
2. Composition et constituants du lait	3
2.1. Eau	4
2.2. Matière grasse	4
2.3. Teneur en protéines	5
2.3.1. Caséines	6
2.3.2. Protéines de lactosérum	6
➤ b. β -lactoglobuline	7
➤ c. Sérum albumine	7
➤ d. Immunoglobulines	7
2.4. Glucides	8
2.5. Minéraux	8
2.6. Vitamines	9
2.7. Enzymes	9
2.8. Cellules du lait	11
3. Caractérisation du lait de vache	11
3.1. Caractères physico-chimiques	11
3.1.1. pH	11
3.1.2. Acidité	11
3.1.3. Densité	11
3.1.4. Masse volumique	12
3.1.5. Point de congélation	12
3.1.6. Point d'ébullition	12
3.1.7. Indice de réfraction	12
3.2. Caractères organoleptiques	13
3.2.1. Couleur	13

3.2.2. Flaveur (goût et odeur).....	13
➤ a. Gout.....	13
➤ b. Odeur.....	14
3.2.3. Viscosité.....	14
CHAPITRE II : Pasteurisation du lait	15
1. Pasteurisation.....	15
2. Différents types de pasteurisation.....	15
2.1. Pasteurisation basse température dite LTLT.....	15
2.2. Flash Pasteurisation.....	15
2.3. Pasteurisation Rapide à Haute Température dite HTST.....	16
2.4. Pasteurisation Continue à très Haute Température dite UHT.....	16
3. Procédés de pasteurisation du lait cru.....	16
• Réception du lait.....	16
• Clarification.....	16
• Thermisation.....	16
• Ecrémage.....	17
• Standardisation.....	17
• Pasteurisation.....	17
• Homogénéisation.....	17
• Refroidissement.....	17
• Conditionnement.....	18
CHAPITRE III : Microflore du lait	19
Introduction.....	19
1. Flores microbiennes du lait.....	19
1.1. Flore originelle (ou indigène).....	19
➤ Bactéries saprophytes.....	20
➤ Bactéries lactiques.....	20

1.2. Flore de contamination	22
1.2.1. Flore d'altération.....	22
➤ Flore thermorésistante	22
➤ Coliformes.....	23
➤ Bactéries psychrotrophes.....	23
➤ Bactéries sporulées	23
➤ Levures et moisissures	24
1.2.2. Flore pathogène.....	25
➤ Staphylocoques.....	25
➤ Entérobactéries	26
➤ Salmonelles	26

Partie II : Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage.....	28
2. Présentation de la région d'étude	28
3. Matériel et méthodes	28
3.1. Matériel.....	28
3.2. Méthodes d'analyses.....	29
3.2.1. Analyses microbiologiques	29
➤ Préparation des milieux de cultures	29
➤ Préparation des dilutions décimales.....	29
➤ Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FTAM).....	29
➤ Dénombrement des coliformes	30
➤ Recherche des streptocoques fécaux.....	31
➤ Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	31
➤ Recherche des clostridiées sulfite-réductrices	32
3.2.2. Analyses physico-chimiques.....	32
➤ Détermination de l'acidité titrable	32
➤ Détermination de la densité	33

➤ Détermination de la teneur en extrait sec total.....	33
➤ Détermination de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique	33
PARTIE III : Résultats et discussion	36
I. Résultats d'analyses microbiologiques	36
1.1. Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie (FTAM)	38
1.2. Dénombrement des coliformes totaux (CT)	41
2.3. Dénombrement des coliformes fécaux (CF).....	43
2.4. Recherche des Streptocoques fécaux (SF).....	45
2.4. Recherche des Staphylocoques.....	48
2.6. Recherche de Clostridie sulfito-réducteurs.....	50
II. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques.....	52
II.1. Caractères organoleptiques.....	52
II.2. Caractères physico-chimiques	52
II.2.1. pH	53
II.2.2. Acidité titrable	54
II.2.3. Densité	54
II.2.4. Matière grasse (MG).....	54
II.2.5. Teneur en protéines	55
II.2.6. Taux de lactose	56
II.2.7. Extrait sec total et Extrait sec dégraissée.....	56
II.2.8. Concentration des minéraux	56
II.2.9. Point de congélation (PC).....	56
II.2.10. Conductivité.....	57
Conclusion	58
Bibliographie	60
Annexe	I

Introduction

Introduction

L'Algérie est un pays de tradition laitière. Le lait et les produits laitiers, en général, occupent une place très importante dans la ration alimentaire des citoyens algériens, il représente la plus grande source de protéines d'origine animale. Les besoins en lait et produits laitiers sont considérables, avec une consommation moyenne de 110 litres de lait par habitant et par an, l'Algérie est le plus important consommateur de lait dans le Maghreb. La consommation nationale s'élève à environ 3 milliards de litres de lait par an, la production nationale étant limitée à 2,2 milliards de litres, dont 1,6 milliard de lait cru. C'est donc près d'un milliard de litres de lait qui est importé chaque année (majoritairement sous forme de poudre de lait). Chaque année, l'Algérie importe 60% de sa consommation de lait en poudre, et la croissance annuelle moyenne du marché des produits laitiers est estimée à 20%; et le marché algérien du lait est presque dominé par le secteur privé. On recense 19 laiteries publiques et 52 laiteries privées à travers le pays. On compte environ 190 000 exploitations laitières, dont 80% sont familiales (Ghaoues, 2010). En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments.

Entre autres, La filière laitière dans la wilaya de Ghardaïa s'est bien développée ces dernières années jusqu'à faire figure de référence au niveau du sud algérien, au regard de son essor remarquable. Cette dynamique a été favorisée par l'application des différents dispositifs et mesures incitatives de soutien, l'importation de génisses de races laitières, la modernisation du système d'élevage en équipant les étables de matériels techniques appropriés à la production laitière, l'autonomie alimentaire du bétail par l'encouragement de la production fourragère dans les grands périmètres agricoles au sud de la wilaya (riches en potentiel hydrique et favorable à l'agriculture irriguée sous pivot), ainsi que par la mise en place d'un système de collecte du lait cru. La production de lait cru y est passée de 2 535 312 litres de lait naturel cru en 2000 à plus de 8 634 762 de litres en 2011, pour d'atteindre les 10 718 523 litres en 2015 (soit une augmentation de plus de 500%). La wilaya a atteint l'autosuffisance en matière de production de lait de vache cru et pasteurisé et exporte vers d'autres wilayas, notamment Ouargla et Tamanrasset, selon la direction du commerce de Ghardaïa.

La production de lait dans la wilaya de Ghardaïa entre dans la logique d'autosuffisance alimentaire, et l'objectif actuel est de favoriser l'investissement pour des projets de coopératives laitières et de développer cette filière, et d'accroître la production tout en garantissant la qualité des procédés de pasteurisation.

Le lait est facilement altérable, il constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs espèces de microorganismes dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies et intoxications humaines. La flore microbienne de lait peut se multiplier d'une façon rapide et exponentielle, donc il faut assurer et garantir sa qualité microbiologique depuis la traite jusqu'à la consommation. En effet, lorsque les conditions de traite, de stockage ne sont pas respectées, ces conditions défavorables sont aussi à l'origine de dégradation de ses caractéristiques organoleptiques.

Dans ce contexte, notre étude s'intéresse au contrôle de la qualité microbiologique et physicochimique suivant les méthodes officielles d'analyses microbiologiques et physico-chimiques relatives aux laits et produits laitiers, délibérées par la direction générale du contrôle économique et de la répression des fraudes dans le but d'évaluation de la qualité microbiologique et organoleptique du lait de vache (cru et pasteurisé) dans les laiteries de la wilaya de Ghardaïa. En réalisant des prélèvements du lait au niveau des sept unités de production du lait.

La présente étude s'articule sur deux parties majeures, la première partie consiste à faire un contrôle microbiologique par la recherche et le dénombrement des principaux groupes microbiens responsables de toxi-infections alimentaires et ceux responsables des accidents de fabrication qui impliquent une altération de la qualité organoleptique et marchande du produit, et une deuxième partie traitant les paramètres physico-chimiques des laits analysés.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

CHAPITRE I:
CHAPITRE I:

CHAPITRE I : Généralités sur le lait

1. Définition du lait de vache cru

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur partiellement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation (sauf la réfrigération à la ferme). La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (pour éliminer les germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (Aboutayeb, 2009; Ghaoues, 2010).

Dès que le lait est chauffé au-delà de 40°C (qu'il soit écrémé ou pas) il n'est plus considéré comme un lait cru. Il en est de même lorsqu'on modifie la flore qu'il comporte (Renard, 2014).

2. Composition et constituants du lait

Le lait contient des nutriments essentiels pour l'être humain : eau, lipides, protéines (principalement de la caséine), acides aminés, vitamines et minéraux (Renard, 2014). Il contient également des constituants bioactifs comme des enzymes. La composition du lait varie en fonction de l'espèce, de la race, de l'alimentation des animaux et du stade de lactation. La proportion d'eau dans le lait varie entre 81,7% et 89,1% en fonction de l'espèce animale. La proportion des autres constituants principaux se répartit comme suit :

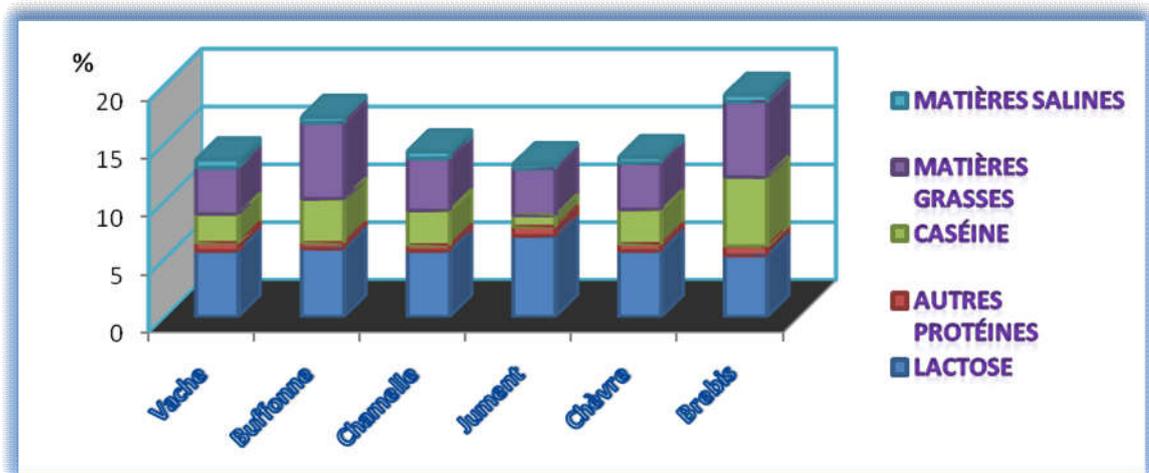


Figure 1. Composition chimique du lait de différentes espèces (Renard, 2014).

2.1. Eau

L'eau est le principal constituant du lait (Luquet et Bonjean-Linczowski, 1985). Avec une proportion de 87 % (Roy, 1951; Debry, 2001), elle représente environ le 9/10^{ème} de la composition totale du lait (Mekroud, 2010).

2.2. Matière grasse

Jeantet *et al.* (2008) rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0,1 à 10 µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme:

- Une très grande variété d'acides gras (150 différents).
- Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes
- Une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0).
- Une teneur moyenne en acide stéarique (C18 :0).

La figure 2 présente un globule gras du lait. La membrane est constituée de phospholipides, de lipoprotéines, de cérébroside, de protéines, d'acides nucléiques, d'enzymes et d'oligo-éléments (minéraux) et d'eau (Bylund, 1995; Ghaoues, 2010).

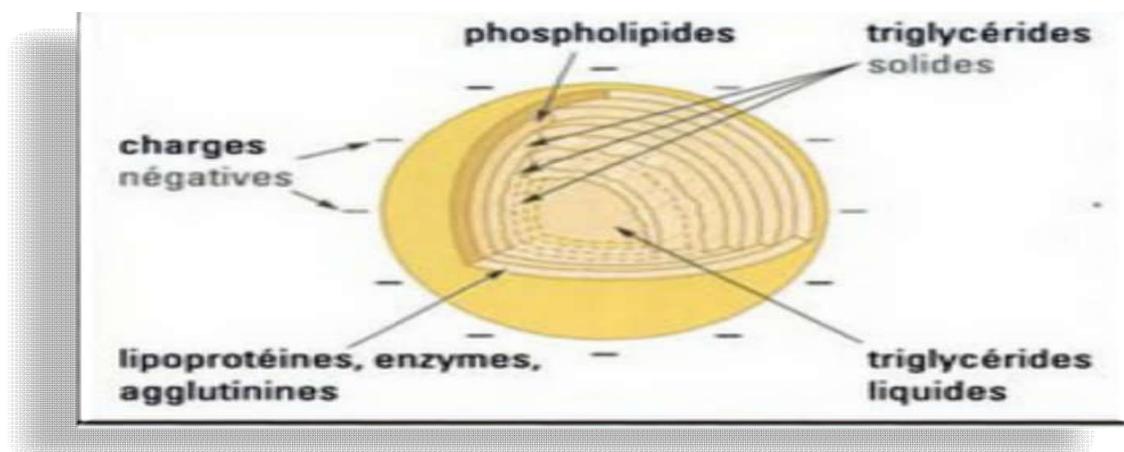


Figure 2. Structure d'un globule de matière grasse (Vignola, 2002).

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse (sont plutôt riches en acides gras insaturés). Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait de femme (1.6% contre 8.5% en moyenne) (Jeantet et al., 2008; Ghaoues, 2010).

Tableau I. Constituants lipidiques du lait de vache et leurs localisation (g/100 g de matière grasse) (Leymarois, 2010).

Constituants lipidiques	Proportions (%)	Localisation
Triglycérides	96-98	Globule gras
Diglycérides	0,3-1,6	Globule gras
Monoglycérides	0,0-0,1	Globule gras
Phospholipides	0,2-1,0	Membrane du globule gras et lactosérum
Cérébrosides	0,0-0,08	Membrane du globule gras
Stéroïdes	0,2-0,4	Globule gras
Acides gras libre	0,1-0,4	Membrane du globule gras et lactosérum
Esters du cholestérol	Traces	Membrane du globule gras
Vitamines	0,1-0,2	Globule gras

2.3. Teneur en protéines

Selon Jeantet *et al.* (2007), le lait de vache contient 3,2 à 3,5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4,6, représentent 80% des protéines totales.

- Les protéines sériques solubles à pH 4,6, représentent 20% des protéines totales.

La classification des protéines est illustrée dans le Tableau II.

2.3.1. Caséines

La caséine participe à la structure microscopique du lait, et le confère sa couleur blanche. Cette protéine intervient dans la fabrication du fromage. Elle coagule pour donner le caillé. Dans certaines conditions, la caséine cesse d'être en suspension dans la phase liquide : par exemple, quand le lait devient de plus en plus acide (coagulation à pH 4,6) ou quand de la présure est ajoutée au lait. La caséine s'organise sous forme de micelles constituées de sous-micelles réunies par des ponts de phosphate de calcium schématisées à la figure suivante (Renard, 2014).

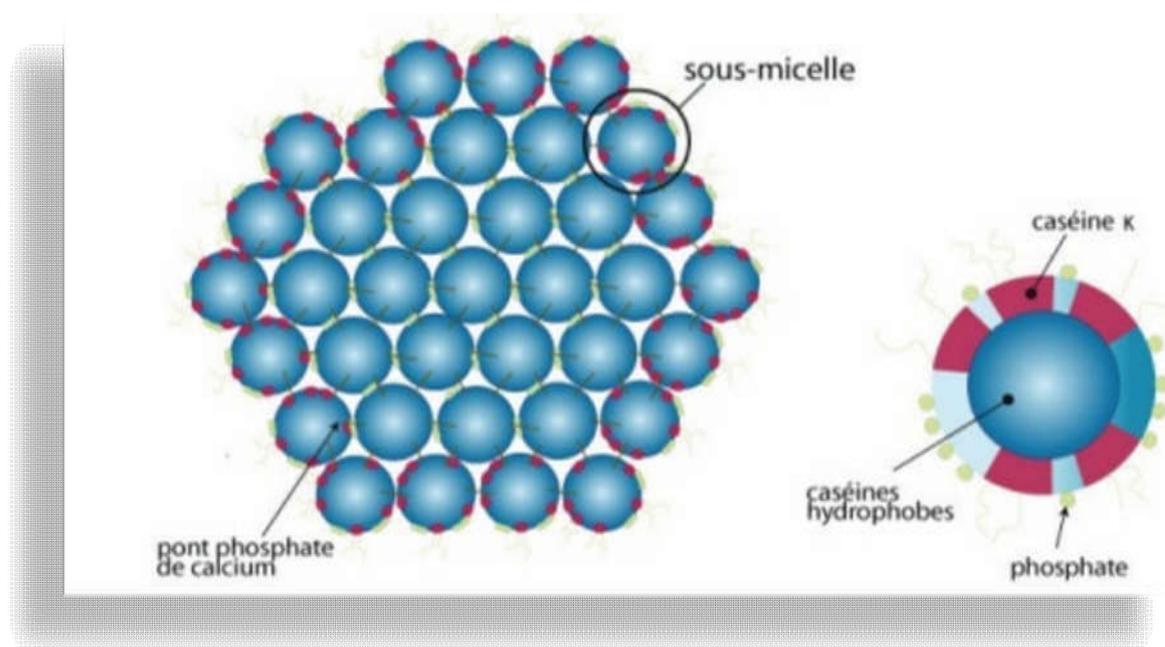


Figure 3. Structure d'une sous-micelle caséique (SCHMIDT, 1982).

2.3.2. Protéines de lactosérum

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (Debry, 2001). Thapon (2005) définit les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles possèdent des propriétés fonctionnelles remarquables, mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

a. α -lactalbumine

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés. C'est une métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum (Vignola, 2002).

➤ b. β -lactoglobuline

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est de 5,1. La β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés (Debry, 2001).

➤ c. Sérum albumine

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés (Vignola, 2002).

➤ d. Immunoglobulines

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

e. Protéases-peptones

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4,6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (Debry, 2001; Ghaoues, 2010).

Tableau II. Classification des protéines (Ghaoues, 2010).

Nom	% des protéines	Nombre d'AA
Caséines	75-85	
Caséine α s1	39-46	199
	8-11	207
	25-35	209
	8-15	169
	3-7	-
Protéines du lactosérum		
β-lactoglobuline	15-22	-
α-lactalbumine	7-12	162
Sérum albumine	2-5	123
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	0,7-1,3	582
	1,9-3,3	-
Protéases peptones	2-4	-

2.4. Glucides

Dans le lait de vache, les glucides sont représentés essentiellement par le lactose (c'est-à-dire le galactopyranosyl 1-4 glucose), qui est synthétisé dans la glande mammaire. C'est un disaccharide à saveur relativement peu sucré, peu soluble, et possèdent un groupement réducteur. Dans le lait le lactose se trouve au taux moyen de 48 grammes par litre. Dans le lait liquide normal, il existe sous forme de deux isomères α à 37% de lactose et β à 63% de lactose α (Fall, 1997).

2.5. Minéraux

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux (Tableau III). Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium (pour les cations) et phosphate, chlorure (pour les anions) (Gaucheron, 2004; Ghaoues, 2010).

Tableau III. Composition minérale du lait de vache (Jeantet *et al.*, 2007 ; Ghaoues, 2010).

Eléments minéraux	Concentration (mg/kg)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

2.6. Vitamines

Les vitamines sont des substances organiques, disponible en très faible concentration chez les animaux et les végétaux. Elles sont essentielles à la vie de tout être vivant. Le lait contient de nombreuses vitamines; parmi les plus connues, les vitamines : A, B1, B2, C et D. Les vitamines A et D sont solubles dans les graisses et les solvants des matières grasses, les autres sont solubles dans l'eau (Kebchaoui, 2012).

2.7. Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions enzymatiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (Blanc, 1982; Pougheon, 2001). Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases et protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait comme la plasmine qui est le composant majoritaire. Le genre

Pseudomonas et tout particulièrement l'espèce *P. fluorescens*, synthétise des protéases exocellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, et le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (Miranda et Gripon, 1986).

- Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme).

- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase et acétylsterase sont des enzymes thermosensibles); et même indicateur d'espèces (test de la xanthine oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (Pougheon, 2001; Bachtarzi, 2011).

Tableau IV. Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Vignola, 200).

Groupe d'enzyme	Classe d'enzymes	pH	Température (°C)	Substrats
Hydrolases	<u>Estérases</u>			
	Lipases	8,5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphorique
	Phosphatase acide	4,0-5,2	37	Esters phosphorique
	<u>Protéase</u>			
	Lysozyme	7,5	37	Paroi cellulaire microbienne
	Plasmine	8	37	
Déshydrogénase ou oxydase	Sulfhydryle xydase	7	37	Protéines, Peptides
	Xanthine oxydase	8,3	37	Bases puriques
Oxygénases	Lactoperoxydase	6,8	20	Composés réducteurs +H ₂ O ₂
	Catalase	7	20	H ₂ O ₂

2.8. Cellules du lait

Les cellules somatiques constituent un bon indicateur de l'état de santé du pis des animaux du troupeau. Leur nombre augmente lorsqu'un agent infectieux s'introduit dans le pis ou lorsque celui-ci est abimé (Renard, 2014).

3. Caractérisation du lait de vache

3.1. Caractères physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot *et al.*, 2002; Yehya, 2014).

3.1.1. pH

Le pH d'un lait normal varie de 6,60 à 6,80. Le lait de fin de lactation et celui des vaches malades ont généralement un pH plus élevé, se rapprochant du pH du sang (Kebchaoui, 2012).

3.1.2. Acidité

L'acidité titrable du lait indique la teneur en acide lactique formée à partir du lactose. Un lait frais normal a une acidité de titration de 16 à 18 °D (degré Dornic) c'est-à-dire 16 à 18 en décigrammes d'acide lactique par litre. C'est une mesure indirecte de sa richesse en caséine et en phosphates. Dans les laits en voie d'altération, cette acidité de titration augmente (en raison de la dégradation du lactose en d'autres acides en plus de l'acide lactique) (Fall, 1997).

3.1.3. Densité

La densité du lait n'est pas une valeur constante pour tous les échantillons du lait. A une température de 20°C, les valeurs moyennes sont comprises entre 1,030-1,033, et pour les laits de grands mélanges elle est de 1,032. Deux facteurs de variation opposés déterminent la densité: la concentration des éléments dissous et en suspension et la proportion de matière grasse. La densité varie proportionnellement à la concentration des éléments dissous et en suspension mais varie de façon inverse à la teneur en graisse (Fall, 1997).

3.1.4. Masse volumique

Elle se mesure le plus souvent à 20°C plus ou moins 5°C et fait référence à l'eau; la masse volumique est de l'ordre de 1,030 g/L pour un litre de lait entier, à 40 g/L de matière grasse. Cette masse dépend de la proportion de matière grasse, et des conditions de température et de pression. Les valeurs sont non constantes, en fonction de la concentration des éléments dissous et en suspensions, ainsi la densité varie proportionnellement avec cette concentration et de la proportion de matière grasse. (Kebchaoui, 2012).

3.1.5. Point de congélation

Le point de congélation (ou température de congélation ou point cryoscopique) du lait de vache est de -0,555 (identique à celui du sérum sanguin). Il existe des variations normales du point de congélation de - 0,530 à - 0,575°C en fonction de la saison, de la teneur en sels de la ration et des variations anormales comme l'altération par fermentation lactique et l'addition de sels solubles qui l'abaissent. La détermination du point de congélation est l'une des caractéristiques les plus constantes du lait pour déterminer la fraude par le mouillage qui s'élève vers 0°C. On estime que le lait cru est mouillé si le point de congélation est au-dessus de - 0,530°C. Par contre l'écémage ne change pas le point de congélation. On mesure le point de congélation avec un cryoscope (Fall, 1997).

3.1.6. Point d'ébullition

Le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée (Amiot *et al.*, 2002). Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5°C (Ghaoues, 2010).

3.1.7. Indice de réfraction

L'indice de réfraction, déterminé grâce au sérum du lait après élimination de la graisse et de la caséine, est relativement constant. Pour le lait frais normal, il est compris entre 38 et 40, et une valeur inférieure à 38 permettrait de suspecter le mouillage du lait. La mesure de l'indice de réfraction est faite par un réfractomètre et ne s'applique pas aux laits en voie d'acidification car il s'agit en fait du dosage indirect du lactose (Fall, 1997).

3.2. Caractères organoleptiques

La qualité organoleptique d'un produit se dégrade au fil du temps, la durée de stockage, la température et leur action combinée affectent considérablement les attributs sensoriels totaux. Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques typiques qui concernent la couleur, l'odeur, la saveur, la viscosité etc.

3.2.1. Couleur

Le lait est un liquide de coloration blanc-jaunâtre. Cette coloration résulte du mélange de micelles de phosphocaseinate de calcium, de globules gras et de deux pigments : le carotène contenu dans la phase grasse est responsable de la coloration jaune. La riboflavine dans le lactosérum, responsable de la coloration jaune vert-fluorescente. Cet aspect caractéristique est celui du lait parfaitement normal, dans lequel presque toute la caséine se trouve sous forme micellaire. Dans le lait écrémé l'absence de carotène le fait paraître blanc-bleuté. Le lait peut présenter des colorations anormales accidentelles dues au sang (rose) ou à des microorganismes de contaminations (coloration bleue, verte, rose, etc.) (Fall, 1997).

3.2.2. Flaveur (goût et odeur)

La saveur du lait est une propriété difficile à définir, mais le goût et l'arôme sont des points critiques pour évaluer le lait. Par conséquent, la saveur constitue un critère de qualité pour le consommateur (Kebchaoui, 2012).

➤ a. Gout

Le goût sucré (doux) du lactose est équilibré par le goût salé des chlorures et tous les deux sont modérés par des protéines. Cet équilibre est maintenu sur la vaste gamme de composition des laits, même quand le niveau d'ions de chlorures varie de 0,06 à 0,12 % (0,6 à 1,2 g/kg). La salinité peut être détectée par des tests sensoriels dans des échantillons contenant 0,15 % d'ions chlorures. La saveur riche est caractéristique des produits laitiers peut être attribuées à de nombreuses molécules comme les lactones, le di-acétyle, les méthylcétones (gout des fromages bleus), certains aldéhydes, l'acétaldéhyde, les diméthylsulfures et certaines acides gras à courte chaîne (ac. gras caprins) (Kebchaoui, 2012).

➤ b. Odeur

L'odeur du lait est difficilement définissable. Elle se différencie très facilement du lait de chèvre qui rapidement lipolysé et laisse apparaître des goûts caprins. Un lait impropre à la consommation reconnaissable par le dégagement d'une odeur acide ou d'œuf fermenté (H₂S), ou acide acétique et formique (coliformes) (Kebchaoui, 2012).

3.2.3. Viscosité

L'augmentation de la viscosité du lait est surtout fonction de la matière grasse à l'état globulaire des macromolécules protéiques et à un moindre degré des substances en solution. Ce qui fait que la viscosité du lait est très supérieure à celle de l'eau. Le lactosérum moins visqueux que le lait écrémé et celui-ci moins que le lait entier. La viscosité dépend de certains facteurs:

- l'espèce animale: le lait des monogastriques est plus visqueux que celui des polygastriques.
- la température: la viscosité diminue avec l'élévation de la température.
- le pH: la viscosité du lait augmente lorsque le pH descend au-dessus de 6,0 excepté le lactosérum et s'élève jusqu'à 12,0 (Fall, 1997).

Partie I :
Synthèse
bibliographique

CHAPITRE II:

CHAPITRE II : Pasteurisation du lait

1. Pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique à des températures comprises entre 60 et 100°C ayant pour but de détruire la totalité des microorganismes pathogènes non sporulés et de réduire significativement la flore végétative. C'est un procédé de conservation limité pour lequel le produit doit être conditionné hermétiquement et réfrigéré (le produit pasteurisé peut être conservé à +4°C pendant uniquement quelques jours) (Chillet, 2011). En effet, un chauffage trop important du lait peut entraîner des altérations physico-chimiques irréversibles. Il est donc essentiel que sa température ne soit pas plus élevée et sa durée pas plus longue qu'il n'est nécessaire pour que le lait soit, à la fois, affranchi de microorganismes pathogènes et de bonne qualité pour sa conservation (S.A, 2011).

En dehors de la réfrigération, d'autres moyens de conservation peuvent être appliqués parallèlement pour ralentir ce développement, comme l'ajout d'agents chimiques de conservation, la réduction de l'activité de l'eau ou encore l'acidification. De plus, le lait cru contient plusieurs enzymes dont la phosphatase alcaline. La destruction de la flore pathogène du lait se fait à 72 °C pendant quelques secondes, ce qui correspond également à l'inactivation totale de la phosphatase alcaline. Le dosage de l'activité de cet enzyme est ainsi une méthode de contrôle de la pasteurisation (S.A, 2011).

2. Différents types de pasteurisation

2.1. Pasteurisation basse température dite LTLT (low temperature long time)

Cette pasteurisation s'effectue pendant au moins 30 minutes à une température variant de 60 à 65,5 °C. Puis, il faut refroidir rapidement le lait, à 10 °C. Cette technique n'est pratiquement plus utilisée. Cependant, elle permettait d'éviter toutes les dégradations thermiques (S.A, 2011).

2.2. Flash Pasteurisation

Le lait est chauffé à 75-80 °C le plus rapidement possible, puis est refroidi. Le flash pasteurisation, contrairement aux autres techniques de pasteurisation, ne dégrade en aucun cas les propriétés organoleptiques du produit, compte tenu de sa rapidité (S.A, 2011).

2.3. Pasteurisation Rapide à Haute Température dite HTST (High Temperature and Short Time)

C'est un procédé continu pour lequel le lait est rapidement porté à une température avoisinant 72 °C et maintenu à cette température pendant au moins 15 secondes. Le lait est ensuite refroidi rapidement à 10 °C. Ce procédé assure une bonne marge de sécurité (S.A, 2011).

2.4. Pasteurisation Continue à très Haute Température dite UHT

Le lait est rapidement chauffé en deux étapes, la seconde se faisant sous pression à une température comprise entre 135 et 150 °C, pendant quelques secondes seulement. Par la suite, le lait est refroidi rapidement et peut-être mis en bouteille ou en briques à chaud (75-80 °C). Cette technique est utilisée par l'industrie laitière.

Un chauffage instantané à une température de 95 °C. Le développement des bactéries lactiques responsables de l'acidification du lait est ainsi fortement ralenti dès que la température est abaissée à 10°C. Cette activité est même stoppée en dessous de 7°C (S.A, 2011).

3. Procédés de pasteurisation du lait cru

Les étapes communes pour élaboration des laits de consommation :

- **Réception du lait**

Cette étape consiste à réceptionner le lait et en mesurant les quantités et la qualité des laits collectés (S.A, 2011).

- **Clarification**

Dans le but d'en extraire les particules plus denses, comme les débris, les leucocytes et les matières étrangères on soumet le lait à une force centrifuge (S.A, 2011).

- **Thermisation**

La thermisation consiste à chauffer le lait à 63-65°C pendant 15 seconde, cette méthode n'inactive pas l'enzyme phosphatase. Il est nécessaire de refroidir le lait rapidement à 4 °C ou moins pour éviter la multiplication des bactéries sporulées aérobies après la thermisation (S.A, 2011).



- **Ecrémage**

C'est la séparation de la matière grasse par un séparateur centrifuge qui décharge la crème d'une part et le lait écrémé d'autre part (S.A, 2011).

- **Standardisation**

En offrant à sa clientèle un choix de laits à différentes teneurs en matière grasse, l'entreprise doit s'en tenir avec précision aux normes établies pour chacune de ces teneurs. En pratique, cela signifie des mesures précises au cours de la standardisation, tant par respect de la réglementation que par souci de rendement économique (S.A, 2011).

Dans le premier cas, il s'agit de mélanger dans un réservoir du lait entier, du lait écrémé ou encore de la crème dans des proportions calculées pour arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange (S.A, 2011).

- **Pasteurisation**

La pasteurisation est un traitement thermique modéré et suffisant permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. Ce traitement permet d'une part, d'assurer la salubrité du produit et d'autre part, d'améliorer sa conservabilité. Cette étape est utilisée pour préparer plusieurs produits comme le lait pasteurisé et le beurre pasteurisé (S.A, 2011).

- **Homogénéisation**

C'est une opération qui empêche les globules gras de remonter à la surface du lait en réduisant leur diamètre. Cette opération se réalise en faisant passer le lait sous pression élevée à travers des orifices ou valves très étroits (S.A, 2011).

- **Refroidissement**

La pasteurisation n'élimine pas tous les microorganismes c'est pourquoi il est nécessaire de faire suivi ce traitement par un brusque refroidissement (le refroidissement) (S.A, 2011).

- **Conditionnement**

Destiné à véhiculer les produits laitiers fluides dans les réseaux de production et de distribution, le contenant doit avoir certaines qualités :

- être attrayant par sa forme et sa présentation.
- offrir une protection efficace au produit contre les chocs physiques, la lumière et la chaleur.
- préserver le contenu des odeurs ou saveurs étrangères.
- Faciliter la manipulation du produit.
- être économique et adapté aux exigences modernes de production (S.A, 2011).

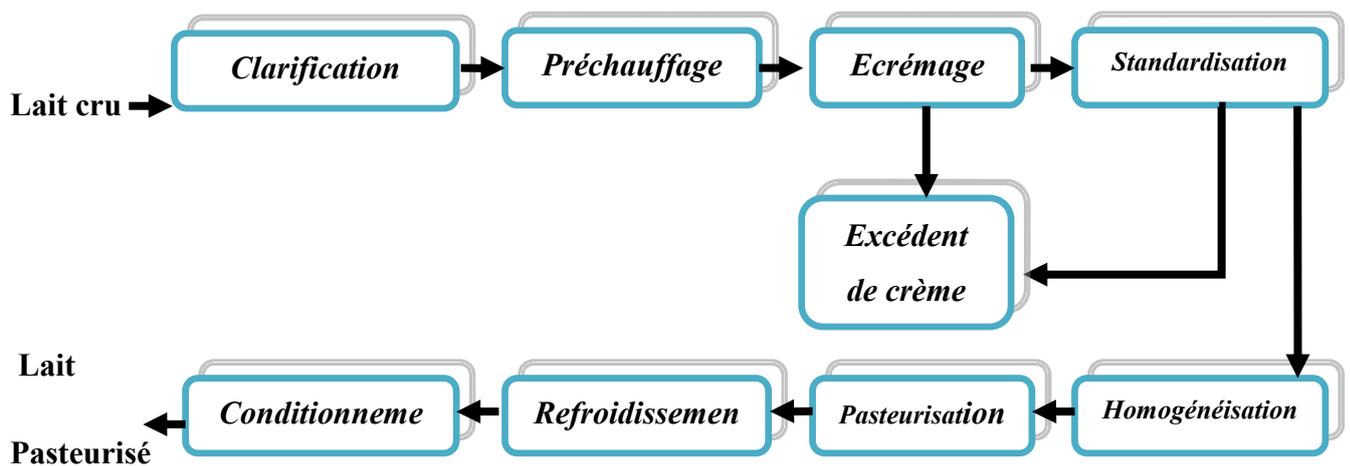


Figure 4. Diagramme de fabrication du lait pasteurisé (S.A, 2011).

Partie I :
Synthèse
bibliographique

CHAPITRE III:
~~CHAPITRE III:~~

CHAPITRE III : Microflore du lait

Introduction

Divers microorganismes peuvent être retrouvés dans les laits crus. Les plus rencontrés sont les bactéries; mais des levures, des moisissures, des virus et divers protozoaires peuvent également être présents. Le lait est un excellent substrat nutritif pour le développement de nombreuses espèces bactériennes. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique, diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (I.N.E, 2009).

1. Flores microbiennes du lait

1.1. Flore originelle (ou indigène)

La flore originelle des produits laitiers est l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, il est pratiquement stérile et protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (inférieur à 5000 germes/mL) (Cuq, 2007).

Les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001). Le Tableau 5 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau V. Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus</i> sp.	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> et <i>Lactococcus</i>	<10
Gram négatif	<10

Le lait est une solution à pH neutre, riche en substances nutritives (vitamines, minéraux, sucre, protéine et matière grasse). Les microorganismes pouvant métaboliser ces substances nutritives et peuvent se développer dans le lait si les conditions intrinsèques (par exemple le pH), et extrinsèques (par exemple la température) leurs sont favorables.

A la sortie de la mamelle, le lait provenant d'un animal sain est peu contaminé. La contamination est due aux infections de l'animal et aux contaminations extérieures. La microflore du lait cru est classée en 2 catégories : les bactéries saprophytes et les bactéries lactiques.

➤ Bactéries saprophytes

Ces bactéries vivent aux dépens des matières organiques animales ou végétales en décomposition (Camille, 2014). Elles peuvent avoir un intérêt technologique et hygiénique.

➤ Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent les coques et les bacilles Gram +, fermentant le lactose pour former de l'acide lactique (Dellaglio *et al.*, 1994). Il s'agit des Lactocoques, des *Leuconosctoc*, des Streptocoques, des Lactobacilles et des Entérocoques. On observe différentes voies de fermentation du lactose : certaines bactéries lactiques sont homofermentaires c'est-à-dire qu'elles fermentent uniquement le lactose en acide lactique, et d'autres sont hétérofermentaires c'est-à-dire qu'elles fermentent le lactose en acide lactique, CO₂ et éthanol. Ces microorganismes tolèrent généralement des pH acides.

En acidifiant le lait, ces microorganismes participent à la formation du goût, et de la texture des produits laitiers. De plus, l'acidification du milieu joue un rôle protecteur contre le développement des organismes pathogènes (Hermier *et al.*, 1992).

En général, les bactéries lactiques présentes naturellement dans le lait ne permettent pas une acidification suffisante, donc des ferments lactiques sont ajoutés lors de l'élaboration des fromages.

➤ **a. Genre *Streptococcus* et *Lactococcus***

Les bactéries du genre *Streptococcus* sont des cocci à Gram positif, catalase négative, à métabolisme anaérobie (S.B, 2002).

Dans le genre *Streptococcus*, les streptocoques du lait forment un groupe distinct des autres espèces qui sont soit pathogènes pour l'homme *Streptococcus pyogenes* ou pour les animaux *Streptococcus agalactiae*, soit saprophyte de la cavité orale : *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* ou de l'intestin : *Streptococcus faecalis*. Ces espèces diffèrent entre elles par la présence d'un antigène de groupe dit de Lancefield et par leur capacité de croître à des températures extrêmes 45°C pour les thermophiles, 10 °C pour les mésophiles (Jones, 1978).

➤ **b. Genre *Lactobacillus***

Lactobacillus est indispensable aux industries alimentaire et laitière tels que *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* servent à la production d'aliments fermentés (fromage). Les lactobacilles posent aussi des problèmes, ils sont parfois responsables de l'altération du lait parce que les produits terminaux de leurs métabolismes donnent des goûts et des odeurs indésirables (Prescott *et al.*, 2003)

➤ **c. Genre *Leuconostoc***

Leuconostoc, famille de *Leuconostocaceae* contient des coques, Gram positifs facultatif pouvant être allongés ou elliptiques et disposés par paires ou en chaînes, les leuconostocs n'ont pas de catalase, ni de cytochrome et réalisent la fermentation hétérolactique, en convertissant le glucose en D-lactase et l'éthanol en acide acétique, par la voie transcétolase, ce genre est utilisé dans la production du beurre et fromage.

Des espèces de *Leuconostoc* sont impliqués dans la détérioration des aliments, elles tolèrent des concentrations élevées de sucre, elles peuvent donc vivre dans le sirop et constituent un problème important pour les raffineries de sucre (Prescott *et al.*, 2003).

➤ **d. Genre *Bifidobacterium***

Contient des bâtonnets irréguliers, non sporulant, Gram positif. Anaérobies et fermentent le lactose, aussi que d'autre sucre, en acide acétique et lactique, ce sont des hôtes typiques de l'intestin humain, découvert en 1906. Plusieurs propriétés bénéfiques leurs sont attribuées. On pense que ces bactéries contribuent à l'équilibre intestinal normal, tout en améliorant la tolérance au lactose (Prescott *et al.*, 2003).

1.2. Flore de contamination

C'est la flore qui contamine le lait, commençant par la collecte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

Les germes les plus souvent évoqués sont les mycobactéries, *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, les entérobactéries, parmi lesquelles les *Escherichia coli* producteurs de toxines et *Salmonella* (Brisabois *et al.*, 1997). Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

1.2.1. Flore d'altération

➤ **Flore thermorésistante**

Un certain nombre de bactéries sont capables de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait (elles sont dites thermorésistantes). Leur développement ultérieur peut altérer les produits et, parfois, être dangereux pour la santé. On distingue:

- ❖ La flore thermorésistante totale, définie comme la flore résiduelle après un traitement à 63 °C pendant 30 minutes ou un traitement équivalent tel que la pasteurisation HTST (72 °C pendant 15 secondes).
- ❖ La flore moyennement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 75 °C pendant 12 secondes.
- ❖ La flore fortement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 80°C pendant 10 minutes. Elle comprend notamment les spores bactériennes (les endospores), qui nécessitent des températures supérieures à 100 °C (Rahli, 2015).

➤ **Coliformes**

Ce sont des bacilles Gram négatif, non sporulés, aérobie ou anaérobie facultatif. Ces bactéries peuvent fermenter le lactose en produisant de l'acide et du gaz. On distingue les coliformes fécaux issus de l'intestin de l'homme et des animaux, et les coliformes non fécaux issus de l'environnement. On retrouve *Escherichia coli*, mais aussi *Hafnia alvei* présent principalement sur le matériel.

Les coliformes induisent un risque de gonflement précoce du à la synthèse de CO₂ et d'hydrogène. Leur présence est un signe de contamination lors de la traite et pendant les manipulations que subissent les produits avant la commercialisation (Badio, 2000).

➤ **Bactéries psychrotrophes**

Les bactéries psychrotrophes (croissance possible à 5°C) du lait cru synthétisent des protéases qui vont lyser certaines protéines du lait. Certaines bactéries psychrotrophes possèdent également une activité lipasique qui va conduire à l'hydrolyse des triglycérides ayant pour conséquence l'apparition de gout très désagréables dans les produits laitiers : gout amer, rance, putride (Boughzala *et al.*, 2010; Oura et Boukhezza, 2015).

Parmi les microorganismes qui composent ce groupe, nous pouvons citer les genres à :

Gram (-) : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Serratia* , etc.

Gram (+) : *Micrococcus*, *Corynebacterium*, etc.

Dans le lait Les spores butyriques peuvent entraîner des défauts comme un goût et une odeur désagréable. *Clostridium tyrobutyricum* est la principale bactérie responsable de ce défaut. En effet, le développement de cette bactérie pouvant résister à des hautes températures grâce à ses endospores, entraîne une fermentation butyrique : production d'acide butyrique, d'hydrogène et de CO₂ (Hermier *et al.*, 1992). Généralement c'est le genre *Pseudomonas* qui domine, il est fortement psychrotrophe et il est multiplié par 100 en 48 heures à +4°C (Monsalier, 1994).

➤ **Bactéries sporulées**

Les bactéries sporulées rencontrées en laiterie appartiennent aux genres ci-dessous (FAO, 1995):

Bacillus, dont les activités enzymatiques peuvent être responsables de l'acidification, la coagulation et/ou la protéolyse des laits de longue conservation.

Clostridium, qui peut provoquer de graves altérations des fromages à pâte dure, mi-dure et fondue. Ces altérations provoquent à leur tour le gonflement des fromages et contribuent à leur donner un goût rance et piquant très désagréable. L'une d'elles, *Clostridium perfringens*, peut être dangereuse par ses toxines.

➤ **Levures et moisissures**

• **Levures**

Dans le lait cru on trouve une très grande variété de genres et d'espèces levuriennes. On peut citer par exemple *Kluyveromyces lactis*, *Debaryomyces*, *Candida* et *Pichia*.

Sont de forme arrondie ou ovale, volumineuses ou unicellulaires, les levures sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatisation. Elles sont aérobies facultatives et se développent en surface formant les boutons de nature mycélienne (Chetouna, 2011). En revanche, d'autres levures peuvent avoir des effets néfastes dans les aliments. Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6 ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait caillé (Bouix et Leveau, 1988). Elles entraînent des altérations désagréables: aspect trouble, odeurs ou goûts anormaux, gonflement des produits ou de leur emballage.

• **Moisissures**

Le lait contient une faible quantité mais une grande diversité de moisissures présentes initialement dans l'environnement. Dans le lait cru on trouve par exemple : *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* qui sont les principaux genres responsables d'altérations des produits laitiers. Les moisissures peuvent entraîner des défauts de flaveur (amertume) et de texture. Par exemple l'altération par *Mucor* conduit à l'accident nommé « poil de chat ». L'origine de ces incidents n'est pas limitée à la matière première mais est également due à l'environnement de fabrication.

Par ailleurs, les moisissures peuvent également être classées dans la flore utile du lait. En effet, les *Penicillium* constituent une des caractéristiques majeures de divers fromages (Hermier *et al.*, 1992).

Certaines moisissures élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles donc difficiles à éliminer une fois formées. L'aflatoxine M 1, élaborée par *Aspergillus flavus* résiste à la pasteurisation des laits et produits laitiers (Wiseman et Applebaum, 1983).

1.2.2. Flore pathogène

Tableau VI. Les germes pathogènes classiquement recherchés en contrôle de qualité (Hermier *et al.*, 1992).

Caractéristiques	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Morphologie	Coques Gram + en grappes	Petits bacilles Gram -	Bacilles courts Gram -	Petits bacilles Gram+
Origine de son caractère pathogène	Production d'une toxine thermostable	Hygiène défectueuse	Hygiène défectueuse, production de toxines	Organisme ubiquiste pouvant se développer aux températures de réfrigération
Symptômes	Nausée, vomissement, diarrhée	Nausée, vomissement, diarrhée, fièvre, maux de tête, douleurs abdominales	Nausée, vomissement, diarrhée, fièvre, crampes d'estomac	Ressemble à la grippe ou à la méningite. Peut provoquer l'avortement chez la femme enceinte

➤ **Staphylocoques**

L'origine de la contamination est la mamelle malade, les staphylocoques retrouvés en nombre important dans le lait. Il provoque des intoxications graves par leur production des toxines thermostables (Kagembea, 1984). Les espèces *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus intermedius* sont les seuls capables de produire des entérotoxines (Debuyser, 1991).

Les staphylocoques pathogènes ont la particularité de posséder une coagulase, une phosphatase et une DNase thermostable. Les staphylocoques non pathogènes sont plus nombreux; ils sont coagulase (-) et non toxinogènes (Ndao, 1996).

➤ Entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles ou coccobacilles, Gram-, oxydase négative, catalase (+), asporulés. Ils réduisent les nitrates en nitrites. Ils sont anaérobies facultatifs (Guiraud, 1998) et constituent l'une des plus grandes familles de bactéries. Les entérobactéries sont divisées en deux groupes (Chandra, 2009):

- les lactoses (-) : *Shigella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*.

- les lactoses (+) : *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*.

➤ Salmonelles

Elles sont responsables de nombreuses toxi-infections. En effet, les toxi-infections alimentaires à *Salmonella typhimurium* et *Salmonella enteritidis* ont souvent pour origine la consommation de lait, crème, beurre, crème glacée, etc. (FAO, 1995).

➤ Colibacilles

Telle que l'espèce *Escherichia coli*, dont certaines souches sont entéropathogènes, peuvent être responsables de graves toxi-infections suite à la consommation de produits laitiers et de lait infectés. La pollution par les coliformes est très fréquente, même légère, elle présente un risque (FAO, 1995).

➤ Brucelles

Elles sont souvent à l'origine de la contamination du lait de vache, chèvre et de beaucoup d'autres espèces dans les pays. Les brucelles sont néanmoins présentes de façon exceptionnelle dans les laits caillés (Semasaka, 1986; Dieng, 2001).

➤ Bacille tuberculeux

Se contracte lors de consommation de lait provenant d'animaux malades principalement lors de tuberculose généralisée ou de mammite tuberculeuse des animaux, (*Mycobacterium*), agent de la tuberculose, zoonose majeure (Semasaka, 1986).

➤ Genre *Listeria*

L'espèce *Listeria monocytogenes* est couramment retrouvée dans le lait cru (Beerens et Luquet, 1987). Est un petit bacille à Gram (+), non capsulé, non sporulé, de mobilité «en pirouette »

caractéristique par examen à l'état frais. Elle fait partie des bactéries psychrotrophes pathogènes (Dieng, 2001).

L'origine des contaminations par les bactéries varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation. La contamination du lait et des produits laitiers par divers germes peut être d'origine endogène, et elle fait alors suite à une excrétion mammaire de l'animal malade; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux, matériel, personnel).

L'ensemble des procédés de traitement et de transformation du lait peut freiner la multiplication des germes éventuellement présents ou au contraire favoriser leur développement.

Les conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées les manipulations, l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du matériel de récolte du lait (seaux et machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks, etc.) sont les principaux sites de contaminations (FAO, 1995).

Partie II :
Experimentation

Matériel et méthodes

Partie II : Matériel et Méthodes

L'analyse microbiologique a été réalisée au sein du laboratoire de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes alimentaires, et celle des paramètres physico-chimiques a été effectuée au sein du centre de formation professionnelle Mohamed chérif Mssaâdia.

1. Echantillonnage

Le lait utilisé dans la présente étude provient de sept laiteries situées dans la wilaya de Ghardaïa. Il est collecté, à partir d'un troupeau de vache, en bonne santé, vivant en semi-extensif, dans le mois de février. Sept échantillons du lait cru d'un volume de 100 mL ont été prélevés dans des flacons stériles à partir des tanks de collection au niveau de différentes laiteries et sept échantillons de lait pasteurisé portés en sachet à la sortie d'usine. Ces échantillons ont été transportés dans une glacière à 5°C jusqu'au laboratoire. Les cultures sont réalisées immédiatement, certains sont rangés dans un réfrigérateur à 4 ou 5°C pour que l'analyse se fait le lendemain.

2. Présentation de la région d'étude

L'étude a été réalisée au niveau de sept laiteries situées dans différentes régions de la Wilaya de Ghardaïa.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

Le matériel et les réactifs utilisés dans ce travail sont cités ci-dessous:

➤ Le matériel et les réactifs utilisés dans ce travail:

Flacons en verre, tubes à essai, pipette Pasteur, anse de platine, Porte tubes, boîtes de Petri, balance électrique, balance de précision, glacière, Bec bunsen, autoclave, étuve, agitateur, plaque chauffante, colonimètre, NaOH, Phénolphtaléine.

➤ Les milieux de cultures :

Tryptone Sel (TSE). La gélose au lait écrémé, milieu lactosé biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL), bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB), bouillon de Roth à simple

concentration(S/C), gélose BEA (*Bile Esculine Azide*), la gélose Baird-Parker (BP), milieu Chapman, la gélose Viande-Foie (VF).

3.2. Méthodes d'analyses

3.2.1. Analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique des échantillons du lait a été faite dans le laboratoire en respectant l'asepsie au moment du travail selon les étapes suivantes :

➤ **Préparation des milieux de cultures**

Les milieux de cultures utilisés dans ce travail ont été préparés dans le laboratoire. (la composition et le mode opératoire sont décrit respectivement dans les annexes 01.

➤ **Préparation des dilutions décimales**

À partir du lait (100 mL) homogénéisé préalablement par des mouvements de rotations, des dilutions sériées de 10^{-1} à 10^{-6} ont été réalisées dans une solution de tryptone sel, selon le protocole suivant:

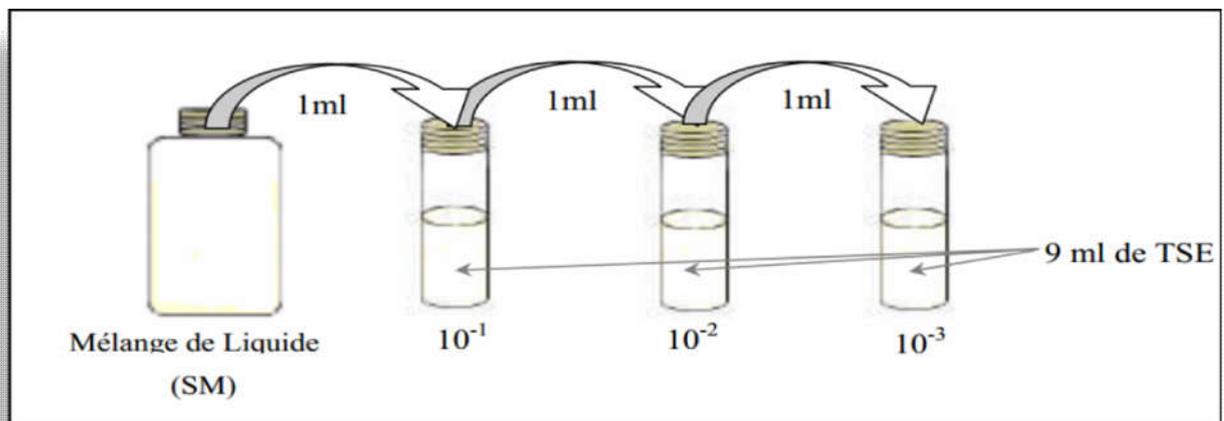


Figure 5. Suspension (solution) mère et dilution décimales

➤ **Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FTAM)**

Le dénombrement des FMAT est réalisé, en double, sur gélose au lait écrémé par ensemencement de 1 mL des dilutions retenues dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre.

Poursuit avec un écoulement d'environ 12 mL de la gélose préalablement fondue et refroidie à 45°C. L'inoculum est mélangé soigneusement dans le milieu de culture, les boîtes sont laissées à solidifier sur la pailasse. La flore est dénombrée après 72 heures d'incubation à 30°C.

Les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies de tailles différentes compris entre 10 et 300 sont retenues pour le comptage. Le calcul du nombre de microorganismes par millilitre du lait se fait selon la formule pour tous les autres microorganismes qui ont été recherchés selon le mode de calcul suivant :

$$\text{Nombre/mL} = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

Avec :

C : somme totale des colonies comptées.

n₁ : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n₂ : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenu.

❖ Coloration de Gram

Une coloration de Gram a été effectuée sur quelques types de colonies de la flore aérobie mésophile choisi au hasard.

➤ **Dénombrement des coliformes**

Le dénombrement des coliformes a été réalisé sur le milieu VRBL en transférant, en double, 1 mL du lait et 1 mL d'une dilution au 1/10^{ème} dans les boîtes de Pétri de 90 de diamètre. Poursuit avec un écoulement d'environ 12 mL de la gélose préalablement fondue et refroidie à 45°C. L'inoculum est mélangé soigneusement dans le milieu de culture, les boîtes sont laissées à solidifier sur la pailasse. Lorsque le milieu est solidifié, 4 mL de milieu non ensemencé est coulé en lissant solidifié à nouveau.

Les boîtes sont placées retournées pendant 24 heures dans une étuve, à 30°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux.

Les boîtes de Pétri contenant moins de 150 colonies de couleur rouge foncé de forme lenticulaires et d'un diamètre d'au moins 0,5 mm sont retenues pour le comptage.

❖ Test de confirmation :

Les colonies rouges de coliformes qui ne sont pas lenticulaires sont à confirmer par l'inoculation d'une seule colonie dans le bouillon BLBVB, le milieu est amené d'une cloche de Durham. Les tubes sont incubés à 30° pendant 24h.

Le test est considéré comme positifs lorsque le bouillon est devenu trouble avec dégagement du gaz de 1/3 de la cloche.

➤ **Recherche des streptocoques fécaux**

Les entérocoques ou streptocoques fécaux ont été dénombrés selon leur présence ou absence dans 0,1 mL du lait cru. Un ensemencement de 1 mL du lait dans un tube de bouillon de Rothe à simple concentration (S/C) a été fait. Après incubation 48 h à 37 °C, les tubes positifs, c'est-à-dire présentant un trouble, ont ensuite été ensemencés sur milieu BEA utilisé pour la confirmation et soumis à une incubation à 37 °C pendant 24 h et 48 h. Les colonies d'entérocoques sont petites, translucides et entourées d'un halo noir (esculine positive) (Maury, 1987 ; Hamiroune et *al.*, 2014).

➤ **Recherche des *Staphylococcus aureus***

Le dénombrement est effectué sur milieu Baird Parker par étalement en surface de 0,1 mL de lait dans des boîtes Pétri de 90 mm. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Après incubation, les boîtes contenant 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques sont marquées sur le fond de la boîte, et retenues pour le comptage.

❖ **Colonies caractéristiques :**

Colonies noires, brillantes, convexes, entourées d'une zone transparente qui peut être translucides. Après 24 heures, peut apparaître dans cette zone transparente un anneau opalescent (blanchâtre) au contact des colonies.

❖ Colonies non caractéristiques :

Colonies noires, brillantes ou gris noirâtre ayant parfois un aspect pâle et une texture sèche, dépourvues de zone transparente.

❖ Test de confirmation :

Les colonies noires obtenues ont été repiquées sur le milieu Chapman et ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Un virage du milieu en couleur jaune confirme la présence du *S. aureus*.

➤ Recherche des bactéries sulfito-réductrices

Le dénombrement des spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs (CSR) à 46 °C, est effectué par le placement des tubes contenant du lait cru dans un bain marie préalablement chauffé 10 minutes à 80 °C, puis refroidi rapidement afin d'activer les spores des *Clostridium* et de détruire les germes sous forme végétative. Ensuite, elles ont été dénombrées sur le milieu de culture viande-foie (VF) additionné à l'alun de fer à raison de 5%. Après l'incubation à 46 °C pendant 20 ± 2 h, seules les colonies caractéristiques entourées d'un halo noir ont été comptées (AFS, 2009 ; Hamiroune *et al.*, 2014).

3.2.2. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques sont effectuées au sein de l'institut national spécialisé en formation professionnelle (Mohamed Cherif Messâadia), Ghardaïa.

➤ Mesure du pH

La mesure du pH qui s'effectue à une température du lait à 20°C sur un pH-mètre de type. Un volume de 10 mL du lait cru est mis dans un bécher, le bout de l'électrode du pH-mètre est immergé dans le lait. La valeur du pH s'affiche instantanément sur l'écran.

➤ Détermination de l'acidité titrable

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 mole/L (1/9 N). La présence de phénolphthaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle). Cette acidité est exprimée en degré Dornic

(°D) où : 1 °D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait (le mode opératoire est donné en annexe n° 2).

➤ **Détermination de la densité**

La densité est mesurée à l'aide d'un thermo-lactodensimètre de type Funk Gerber, le principe consiste à plonger le densimètre dans une éprouvette de 100 mL rempli de lait à analyser, lorsqu'il se stabilise, une lecture directe donne le résultat l'écran (mode opératoire dans l'annexe n°3).

➤ **Détermination de la teneur en extrait sec total**

La matière sèche est une fraction massique des substances restant après la dessiccation du lait. Le dosage de l'extrait sec du lait est déterminé par évaporation d'une certaine quantité du lait et pesé du résidu. L'évaporation au bain marie à 70°C puis introduire l'échantillon à l'étuve à 103°C pendant 3 heures après suivi par une dessiccation (le mode opératoire est décrit dans l'annexe n°5).

➤ **Détermination de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique**

Le dosage de la matière grasse doit être commencé le plus tôt possible. La méthode employée pour la détermination de la matière grasse est celle de Gerber .les résultats sont exprimés par convention en grammes.

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool isoamylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux (le mode opératoire est donné en annexe n°4).

➤ **Détermination de l'extrait sec dégraissé**

La matière sèche dégraissée est obtenu par la différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Le lait normal contient habituellement 90 à 95 g de matière sèche non grasse (le mode opératoire est décrit dans l'annexe n°6).

Afin de compléter nos déterminations physico-chimique du lait bovin, on a préféré d'utiliser un dispositif plus évolué que la méthode manuelle, correspondant à un appareil d'analyseur du lait : LactoStar de type FUNKE GERBER. Le LactoStar est un nouvel appareil d'analyse du lait et ces

dérivés avec calibrage du point zéro complètement automatique pour analyser le lait rapidement et exactement. L'appareil contient trois pompes : la pompe de mesure, la pompe de rinçage par l'eau distillée et la pompe de nettoyage par un liquide spécial, qui est raccordées au bidon correspondant. Une seule mesure permet de déterminer de manière rapide et sûre les paramètres suivants :

- la teneur en protéines.
- La concentration du lactose.
- Le taux de minéraux.
- L'extrait sec dégraissé.
- point de congélation.
- conductivité électrique.

Grâce au système de mesure à capteurs multiples utilisé, l'appareil se différencie par sa haute tolérance matricielle, il est possible d'analyser différents types du lait avec le même calibrage.

❖ **Principe de mesure:**

LactoStar utilise un échantillon du lait de 12 ml, mis dans un bécher, le lait ensuite est aspiré dans les cellules de mesure au moyen d'une pompe. Les protéines, le lactose et les minéraux sont déterminés à l'aide d'une cellule de mesure qui est équipée de technologies sensorielles combinées à l'aide de 4 longueurs d'onde optiques différentes. Le point de congélation est calculé sur la base des valeurs mesurées qui sont déterminées. La démarche de l'appareil est facile par une gestion claire de 5 touches (4 touches fléchées et une touche de centre « Entrer »). La touche « Enter » permet de lancer la fonction ou l'action qui a été sélectionnée à l'aide des touches fléchées.



Figure 6. Lactostar utilisé pour analyser le lait

Partie III :
Résultats et discussion

Résultats et discussion

PARTIE III : Résultats et discussion

L'étude qui a été faite pour évaluer la qualité microbiologique et physicochimique des deux types du lait cru et pasteurisé, sept échantillons du lait cru et sept du lait pasteurisé ont été prélevés chez sept laiteries élaborent du lait pasteurisé en sachet, l'analyse microbiologiques et physico-chimiques du lait avant et après sa pasteurisation a illustrée les résultats suivants :

I. Résultats d'analyses microbiologiques

Nos résultats enregistrés pour un dénombrement des principaux groupes microbiens exprimé par une unité formant une colonie par millilitre (UFC/mL) et une recherche de la présence ou l'absence des bactéries à potentiel pathogène selon (JORA, 1998). Les résultats sont représentés sous forme de tableaux (VII, VIII) accompagnée de figures.

Tableau VII. Résultats de dénombrement microbiologique des échantillons du lait cru (en UFC/mL)

Echantillon	FTAM (10^5)	CF (10^3)	SF	Staph	CRS
E1	1,62	35,6	Absence	Absence	Absence
E2	25,2	0,5	Absence	Absence	Absence
E3	0,83	7,9	Absence	Absence	01
E4	0,27	12,7	Présence	Absence	Absence
E5	2000	9000	Absence	Absence	Absence
E6	236	31,2	Absence	Absence	Absence
E7	181	180	Présence	Absence	Absence
Normes (J.O.A)	10^5	10^3	Absence/0,1ml	Absence	50

FTAM : flores mésophiles aérobies totale, CF : coliformes fécaux, SF : streptocoques fécaux, Staph : Staphylocoque, CRS : *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Les valeurs hors normes sont présentées en couleur rouge.

Les résultats obtenus concernant les sept échantillons du lait pasteurisé sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII. Résultats de dénombrement microbiologique des échantillons du lait pasteurisé (en UFC/ mL).

Echantillon	FTAM (10^5)	CT (10^3)	CF (10^3)	Staph
E'1	0,89	Absence	Absence	Absence
E'2	3,48	Absence	Absence	Absence
E'3	2,55	Absence	Absence	Absence
E'4	2,04	Absence	Absence	Absence
E'5	0,90	Absence	Absence	Absence
E'6	2,6	Absence	Absence	Absence
E'7	663	2	0,90	Absence
Normes	3.10^4	1	Absence	Absence

FTAM : flores mésophiles aérobies totale, CT : coliformes totaux, CF : coliformes fécaux, Staph : Staphylocoque.

Les valeurs hors normes sont présentées en couleur rouge.

1.1. Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie (FTAM)

La culture des bactéries du lait sur GLE a démontré la présence de différents types de colonies blanches et jaunâtres, qui possèdent différents diamètres au sein d'une même boîte de Pétri (Fig 8), avec un nombre variable d'une boîte à l'autre pour la plupart des échantillons du lait cru et pasteurisé analysés.

L'étude microscopique repose sur les critères de la coloration de Gram, la forme (cocci, bacilles, coccobacilles, etc.) et le mode d'association (grappe, chaînette, diplocoque et tétrades, etc.). Différents aspects microscopiques ont été observés selon les différentes colonies qui compose la FTAM du produit analysé, dont la présence de long et courts bacilles à Gram positif et d'autres à Gram négatif regroupées ou dispersés avec des cocci de différentes dimensions à Gram positif regroupées en amas (tétrades) et également en chaînettes.

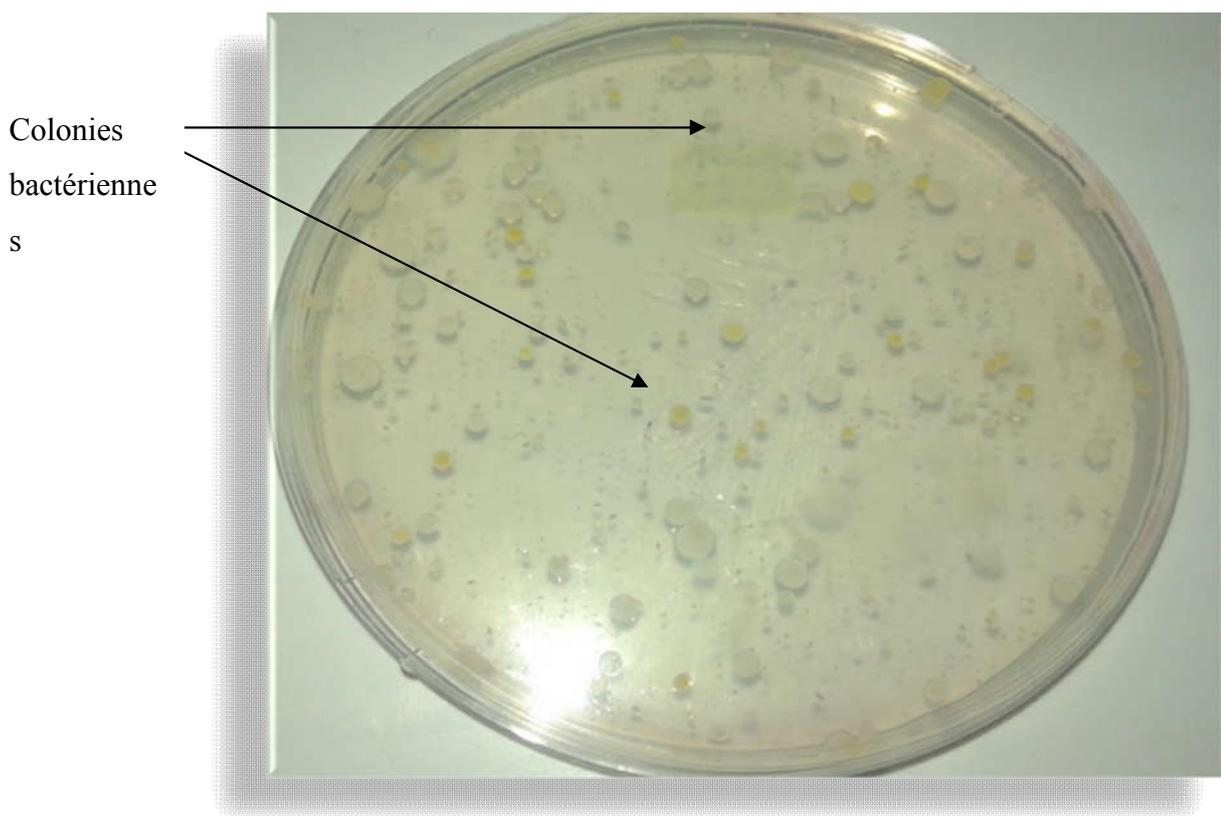


Figure 7. Aspect macroscopique de FTAM sur milieu GLE

Les échantillons du lait cru prélevés présentent une charge en microorganismes de la flore totale qui varie de $0,27 \cdot 10^5$ à $2 \cdot 10^8$ UFC/mL (tableau VII), dont deux échantillons parmi sept ont une charge de $0,27$ et $0,83 \cdot 10^5$ UFC/mL, respectant les normes qui tolère un seuil de 10^5 germes par

millilitre du lait; et cinq échantillons analysés dépassent ce seuil. Tandis que ceux du lait pasteurisé ont une charge microbienne varie de $0,89.10^5$ à 663.10^5 UFC/mL (Tableau VIII) et ils sont tous dépassent les normes (3.10^4 UFC/mL) parmi les quels l'échantillon E7 représente une charge significative atteignant 663.10^5 UFC/mL.

Nous avons remarqués une diminution de la charge microbienne dans les quatre échantillons du lait cru E1, E2, E5 et E6 après la pasteurisation, dont la diminution est significative et estimée par deux milles fois pour l'échantillon E5 et d'environ quatre-vingt-dix fois pour l'échantillon E6 (malgré que cette diminution n'atteint pas les normes demandées pour le lait pasteurisé). En revanche, la charge microbienne a augmentée après la pasteurisation pour les autres échantillons E3, E4 et E7. Il est à préciser que l'échantillon E7 représente une forte contamination (3 fois supérieur) par rapport à celle du lait cru E7. L'historgramme des figures 9 et 10 illustre les variations du nombre de FTAM entre le lait cru et pasteurisé.

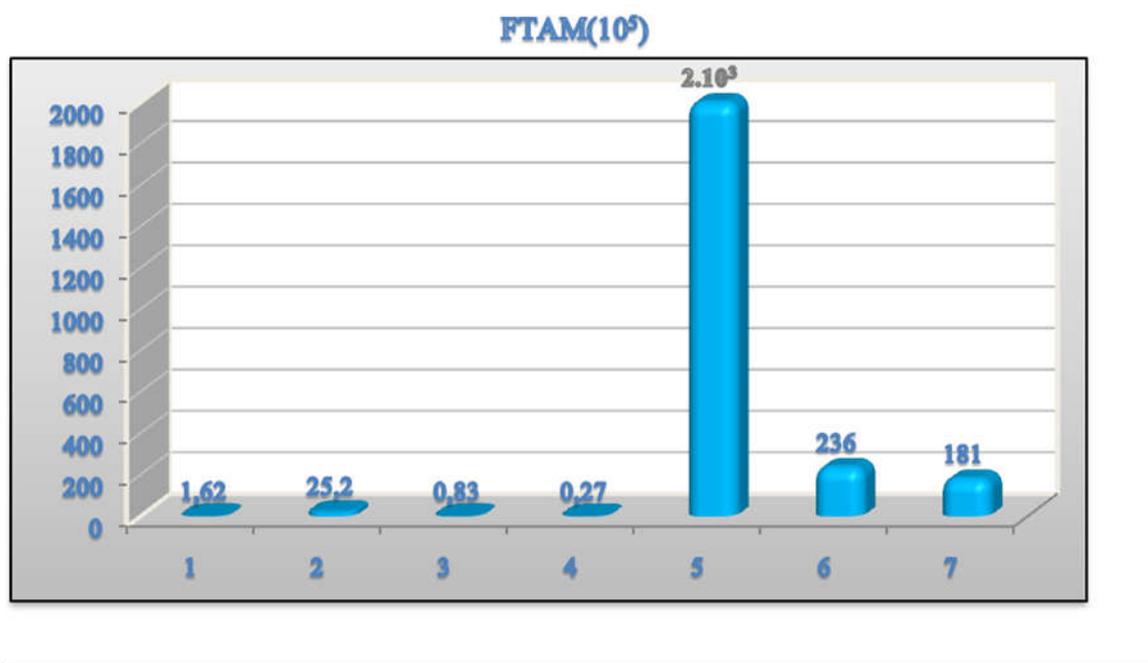


Figure 8. Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie du lait cru

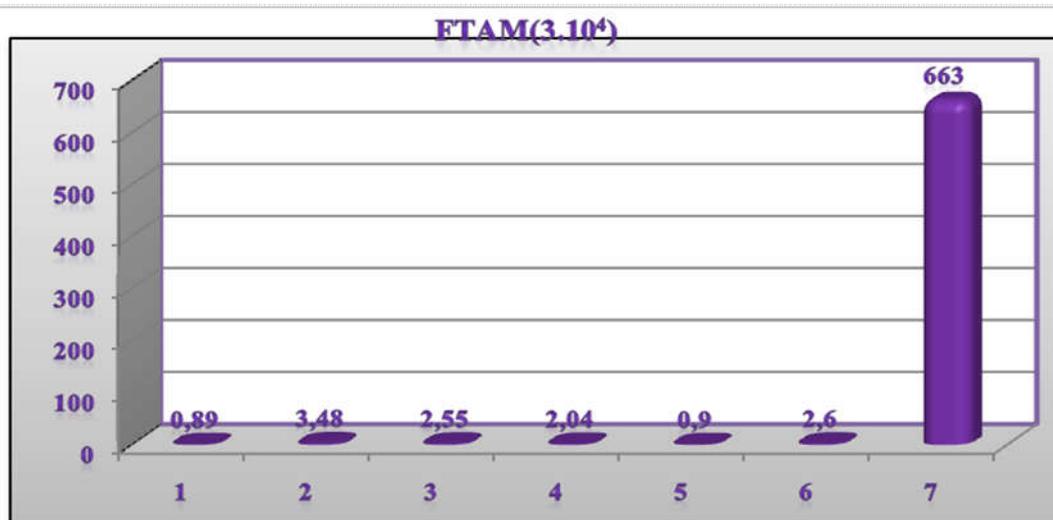


Figure 9. Dénombrement de la flore totale mésophile aérobie du lait pasteurisé

Nos résultats sont traduits une bonne qualité microbiologique du lait cru uniquement pour deux producteurs (les échantillons E3 et E4) et une mauvaise qualité pour les autres échantillons du lait cru et pasteurisé. La pasteurisation sert normalement à réduire la charge microbienne en FTAM du lait cru d'environ trois fois selon les normes du lait cru et pasteurisé respectivement (10^5 et 3.10^4). Les variations des résultats obtenus peuvent indiquer que la pasteurisation est mal faite pour les quatre échantillons E1, E2, E5, E6, ou une altération postérieure des échantillons par des contaminants externes, et que la pasteurisation n'est pas réalisée pour les échantillons E3, E4, E7 prouvée par une sur-contamination.

Une étude similaire a été faite par Debouz *et al.* (2014), pour évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique du lait cru de chamelle et de vache de la région de Ghardaïa, dont l'échantillon prélevée convient à l'échantillon de l'unité E5, et subi exactement les mêmes procédés d'analyses à ceux que nous avons réalisés, et il ressort que le lait analysé contient une charge bactérienne de l'ordre de $2,9.10^3$ UFC/mL où cette valeur est différente de nos résultat (2.10^8 UFC/mL). Une analyse du lait pasteurisé du même producteur E'5 est réalisée par Ouled Laid et Bedda (2004), ils ont conclu que ce lait est de bonne qualité microbiologique alors que les résultats du lait analysé dans notre cas montrent qu'il est de qualité acceptable.

Les échantillons de lait cru et pasteurisé originaires respectivement des unités E3 et E'3, ont été également analysés par Ben ramdane et Zerrara (2011), leur résultat montre que le lait cru est

fortement contaminé en FTAM ($6,9.10^5/\text{mL}$) par rapport à nos résultats ($0,83.10^5/\text{mL}$) alors que le lait pasteurisé est dépourvu en FTAM.

Une étude similaire du lait cru a été faite par Bachtarzi (2011) qui a soulevé la présence d'une charge importante en microorganismes de la flore totale qui varie de $0,8.10^6$ à 98.10^6 UFC/mL, pour une moyenne de $2,88.10^7$ UFC/mL dans 30 échantillons prélevés de la laiterie « Safilait » située dans le Constantinois.

L'étude de Ghazi et Niar (2011) qui a traité la qualité hygiénique (FAMT) de 155 échantillons du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret, ont révélé que 81,93% des échantillons sont contaminés.

D'après Hamiroune *et al.* (2014), 192 échantillons de laits crus de vache de race locale et améliorée ont été prélevés dans huit points de vente dans la région de Jijel et Blida, dont la totalité des échantillons ont été infectés par la flore mésophile aérobie totale avec un nombre moyen vari de $6,5.10^5$ à 8.10^5 UFC/mL selon les sites.

On conclut que notre étude concernant le lait cru provient de la majorité des producteurs dans la région de Ghardaïa ressemble beaucoup à celle des autres régions l'Algérie, elle affirme que ce lait est contaminé par une flore mésophile aérobie. D'après Martin (2007), cette flore présente dans les aliments à la faveur d'un couple temps / température favorable à leur croissance. Elle regroupe les bactéries, levures, moisissures qui se développent en présence d'air (aérobie) à température moyenne (mésophile: 25 à 30°C). Elle correspond à des conditions optimales de développement de ces germes, appelés aussi germes d'altération. Bien que, pour la plupart des espèces, cette flore ne soit pas dangereuse pour la santé, sa détection dans les aliments traduit une altération. Elle amoindrit la qualité intrinsèque de la denrée alimentaire (goût, odeur et aspect).

1.2. Dénombrement des coliformes totaux (CT)

La culture des échantillons du lait cru et pasteurisé sur le milieu VRBL donne des colonies rouges (couleur du milieu), de forme lenticulaire (Figure 11); certaines colonies ont une forme typique (qui est prédominante) et quelques d'autres colonies sont atypiques. La coloration de Gram a montré que les bactéries des coliformes totaux sont des bacilles courts à Gram négatif.

Les coliformes totaux sont dénombrés uniquement dans le lait pasteurisé. L'analyse a montré que ce lait est dépourvu de CT dans six échantillons conformant aux normes qui tolère un maximum de 1 UFC/mL, sauf le 7^{ème} (E'7) qui a un taux significatif atteignant $9,09.10^2$ UFC/mL (Figure 11).

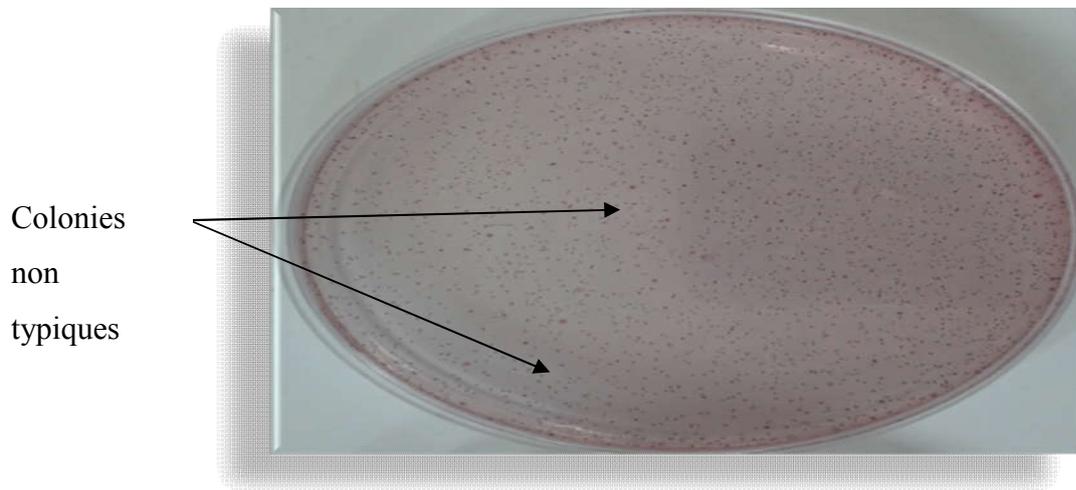


Figure 10. Aspect des colonies typiques des CT dans l'échantillon E'7

Les colonies non typiques de coliformes totaux ont subi un test de confirmation (voir la section matériel et méthodes), les résultats obtenus sont présentés dans la figure 12. Chaque colonie parmi Cinq colonies différentes et suspectes considérées non typiques est inoculée dans un tube contenant le bouillon BLBVB, après 24 heures de cultures, deux tubes parmi cinq ont montrés un trouble et un dégagement de gaz dans la cloche de Durham indiquant un résultat positif, les autres tubes ne présentent aucun changement.

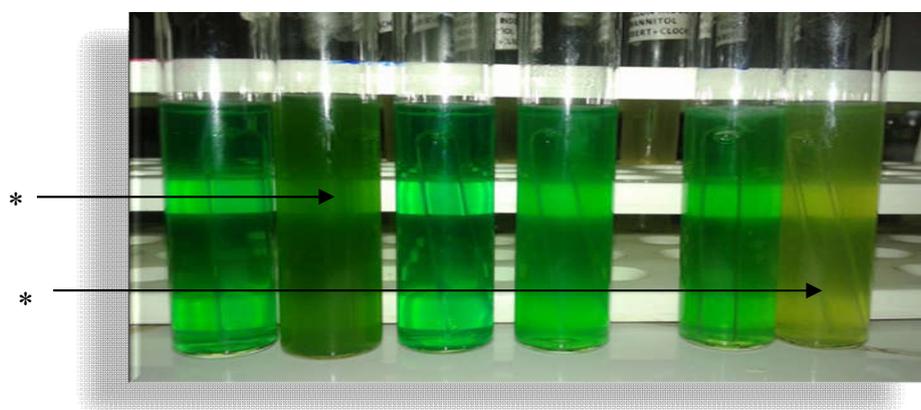


Figure 11. Aspect des résultats positif et négatif de test de confirmation des CT

Le milieu VRBL est du type sélectif c'est-à-dire qu'il sélectionne des micro-organismes pouvant ainsi bénéficier des facteurs de croissance. La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (V.R.B.L.) est utilisée pour la recherche et le dénombrement des bactéries coliformes (*Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*) dans l'eau, les produits laitiers, et les autres denrées alimentaires. S'il y a une croissance bactérienne cela veut dire que ces bactéries résistent aux agents sélectifs : le cristal violet et les sels biliés. Si le micro-organisme a dégradé le lactose présent dans le milieu, cela s'observera par un virage de l'indicateur pH vers une couleur rouge (URL 1).

Les colonies coliformes non typiques observées dans notre cas donnent un tapis de colonies non différenciées; il est connue que lorsque le nombre de coliformes totaux ou d'autres bactéries est tellement élevé, les colonies sont observé sous forme d'un tapis bactérien (M.G.S, 2015).

La cloche de Durham permet le recueil des gaz, le trouble du milieu et la production de gaz sont dues à la fermentation du lactose par les coliformes (URL 2). Dans nos résultats, les colonies typiques sont pris en considération et ont dénombrés, mais les autres ne sont pas dénombrées.

Selon Ouled Laid et Bedda (2004), l'échantillon E'5 a dépassé les normes réglementaires, qui indiquent l'augmentation de ce type de bactéries en fonction du temps dans cette laiterie. Ben Ramdane et Zerrara (2011), ont notés l'absence totale des CT dans l'échantillon E'3, ce qui corrobore avec nos résultats.

2.3. Dénombrement des coliformes fécaux (CF)

Les colonies des coliformes fécaux (Figure 13) sont identiques à celles des coliformes totaux, leur dénombrement dans les échantillons du lait cru donne des résultats varie de $0,5 \cdot 10^3$ à $9,0 \cdot 10^8$ UFC/mL (Tableau VII), dont un seul échantillon E2 qui est conforme aux normes (10^3) parmi les sept échantillons analysés. Par contre, les autres échantillons dépasses les normes en vigueur avec une charge bactérienne significativement élevés (les échantillons E5 et E7), alors que celles du lait pasteurisé sont dépourvus de CF ce qui est conforme aux normes autorisés (absence de CF) sauf l'échantillon E'7 qui a un taux très élevé qui atteint $9,09 \cdot 10^2$ UFC/mL.

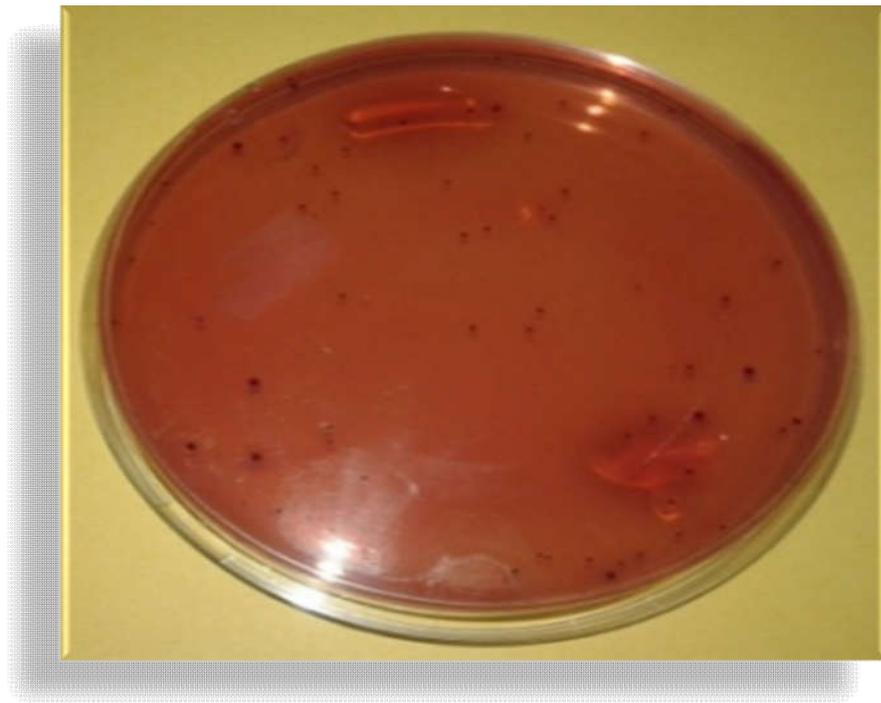


Figure 12. Aspect des colonies typiques des coliformes fécaux

La figure 14 représente la contamination des sept échantillons du lait cru par les coliformes fécaux.

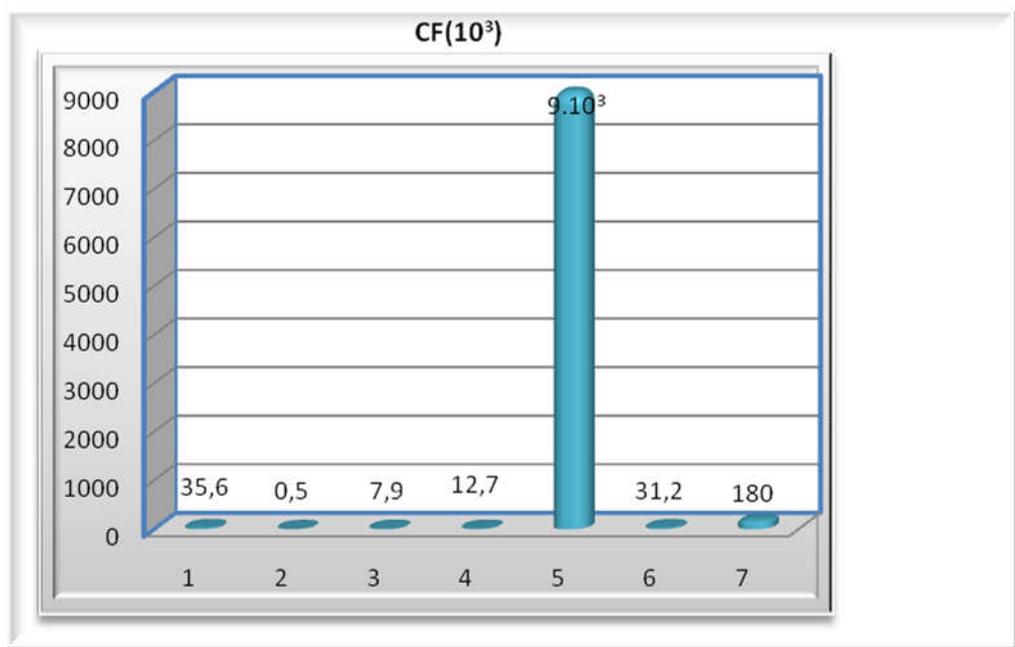


Figure 13. Dénombrement des coliformes fécaux dans le lait cru

D'après nos résultats du dénombrement des coliformes totaux et fécaux, il apparaît que le producteur du lait cru et pasteurisé de l'échantillon E2 respecte l'hygiène, alors que les autres (quatre producteurs) ne respectent pas les conditions d'hygiène lors de la traite ou durant la collection du lait cru. Le lait pasteurisé est dépourvu de coliformes pour les six producteurs de la région de Ghardaïa, ce qui montre l'efficacité de la pasteurisation chez ces producteurs. Alors que le lait cru et pasteurisé de l'échantillon du producteur E7 et E'7 évoquant une contamination significative d'origine fécale où nous pouvant suspecter une pasteurisation mal faite ou une utilisation d'un matériel souillé, qui altère le lait après sa pasteurisation.

Debouz *et al.* (2014) ont notés l'absence des coliformes fécaux. De plus, Ouled Laid et Bedda (2004) ont montrés une forte contamination du lait pasteurisé par les CF. Ben Ramdane et Zerrar (2011) ont signalé des valeurs de l'ordre de $2,5.10^5$ UFC/mL, tandis que le lait est pasteurisé, mais cet échantillon est comme même dépourvu de CF.

Selon Bachtarzi (2011), la charge en flore thermorésistantes de 30% des échantillons présente des résultats inférieurs à la norme, et 70% des laits crus ont une charge en flore thermorésistantes dépassant la norme et sont donc susceptibles d'entraîner des altérations post-pasteurisation du lait.

De plus, un pourcentage de 80% des échantillons ne présentaient pas du tout de coliformes (Ghazi et Niar, 2011). Alors que 52,6 % des échantillons analysés ont présenté une charge en coliformes thermotolérants supérieure aux normes exigées, selon les sites de prélèvement, leur concentration moyenne varie de 2,4 à $6,2. 10^4$ UFC/mL (Hamirouche *et al.*, 2014).

2.4. Recherche des Streptocoques fécaux (SF)

La culture des streptocoques fécaux qui a été faite en tube sur milieu de Rothe (S/C), a donné un trouble de ce bouillon et a montré une formation d'une pastille blanchâtre au fond du tube après 24 heures d'incubation (Figure 15). A partir de cette culture, un ensemencement avec une anse de platine a été fait dans une boîte de Pétri contenant la gélose BEA. Après 24 heures de cultures, les colonies poussées sur ce milieu sont de petites tailles et de couleur noirâtre (Figure 16).

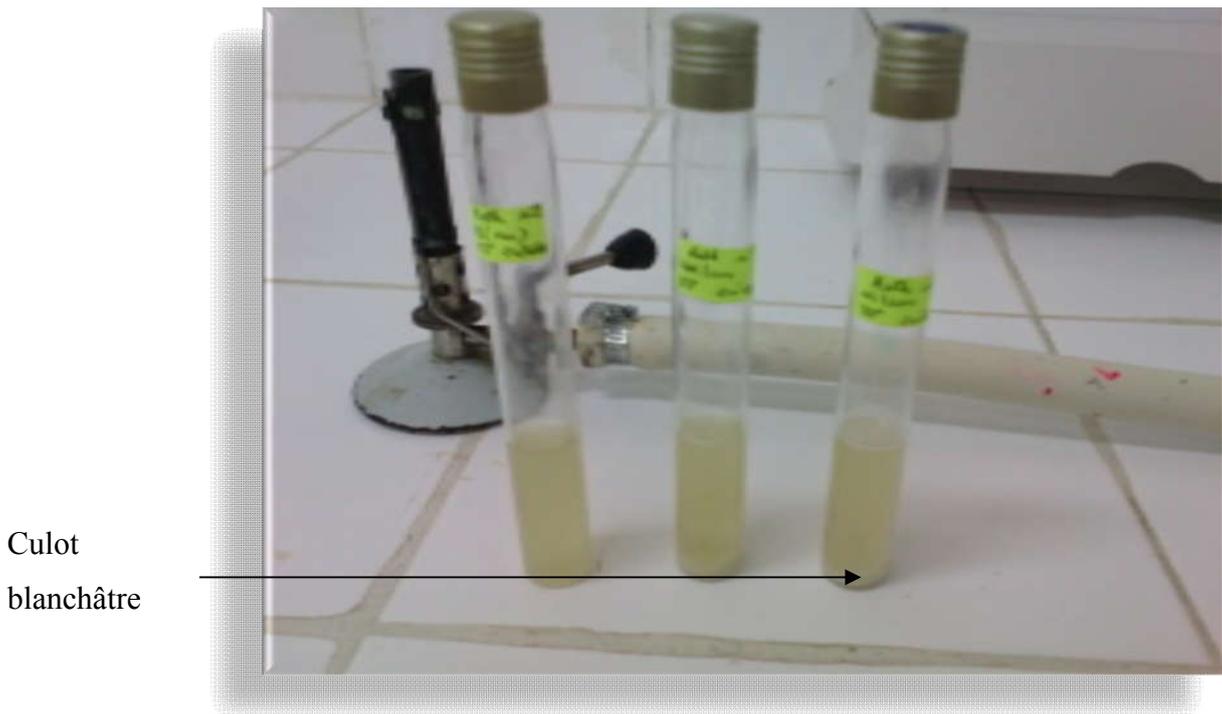


Figure 14. Aspect des cultures des SF sur bouillon de Roth



Figure 15. Dénombrement des Streptocoques fécaux

L'interprétation des résultats se fait selon le JORA (1998) par la recherche de la présence ou d'absence de ces bactéries dans 0,1 mL du lait cru. L'analyse microbiologique a donné un trouble du milieu dans trois échantillons du lait cru parmi sept, soit trois tubes positifs (Figure 15), et uniquement deux tubes ont donné une culture positive sur le milieu BEA (Figure 16), ce qui montre la présence de SF dans deux échantillons analysés (E4 et E7).

Le bouillon de Rothe permet l'enrichissement en Entérocoques d'un inoculum de produit alimentaire. Un trouble signe la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer. (URL 3). Ce qui signifie la présence des Entérocoques dans les trois tubes positifs.

Le milieu BEA est le milieu d'isolement sélectif des *Enterococcus* et *Streptococcus* du groupe D : l'azoture de sodium inhibe la croissance des bactéries Gram négative et de tous les Streptocoques sauf ceux du groupe D, et la bile de bœuf inhibe la croissance des bactéries Gram positive (URL 4).

Les colonies noires montrent l'hydrolyse de l'esculine révélée par les ions de fer III (une confusion est possible avec le sulfure d'hydrogène mais les bactéries qui poussent sur ce milieu sont habituellement H₂S négatif) (URL 7). L'absence des colonies dans l'échantillon E5 sur BEA et qui a un résultat positif sur Rothe indique la présence des Entérocoques autres que *Streptococcus* du groupe D.

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin. L'*Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces les plus souvent identifiées chez l'humain (Clausen *et al.*, 1977; Gleeson et Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains (Olivieri, 1982), à des concentrations variant de 10⁵ à 10⁸ bactéries/g (Gleeson et Gray, 1997; Edberg *et al.*, 2000; Hancock et Gilmore, 2000). Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer le lait, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus* (Clausen *et al.*, 1977; Farrow *et al.*, 1984; Bitton, 1999). Ces espèces bactériennes colonisent les intestins du bétail, des chevaux et de la volaille bien qu'elles puissent parfois être présentes même chez l'humain, en particulier *S. bovis* (Ruoff *et al.*, 1989; Devriese *et al.*, 1998). Leur détection témoigne, habituellement d'une pollution fécale ancienne (Clausen *et al.*, 1977). De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu défavorables. Ils résistent mieux que les coliformes et *E. coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage, à la salaison et à la dessiccation (Cuq, 2007) et sont, donc selon certains auteurs de meilleurs indicateurs de la qualité hygiénique du lait (Waes, 1973). Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Ils ne renferment pas d'espèce considérée pathogène du point de vue alimentaire. Cependant, après prolifération abondante dans l'aliment, ces germes peuvent être à l'origine de toxi-infections bénignes qui sont, toutefois, exceptionnelles (Cuq, 2007 In Bachtarzi, 2011).

Ben Ramdane et Zerrar (2011) ont signalés l'absence des SF ce qui convient à nos résultats. De plus, Bachtarzi (2011) a estimé la charge en SF qui présente une très forte variabilité allant de $1,3$ à $250 \cdot 10^4$ UFC/mL. Le résultat montre que tous les échantillons présentent une charge supérieure à la norme (JORA, 1998). D'après Ghazi et Niar (2011), plus de 80% contenaient des streptocoques fécaux. De même, 40,1 % des échantillons ont montrés une charge en entérocoques supérieure aux normes, le nombre moyen variant de $1,4$ à $4,8 \cdot 10^4$ UFC/mL selon les sites d'échantillonnages (Hamiroune *et al.*, 2014).

2.4. Recherche des Staphylocoques

Nos résultats ont notés l'absence de colonies sur milieu BP dans les échantillons du lait cru. Uniquement, un seul échantillon (E3) a montré une croissance de colonies noires, brillantes (Figure 17) dont le nombre de bactéries est de 90 UFC/mL. La coloration du Gram indique la présence de cocci à Gram positif en plusieurs modes de regroupement, en tétrades, en amas et dispersés.

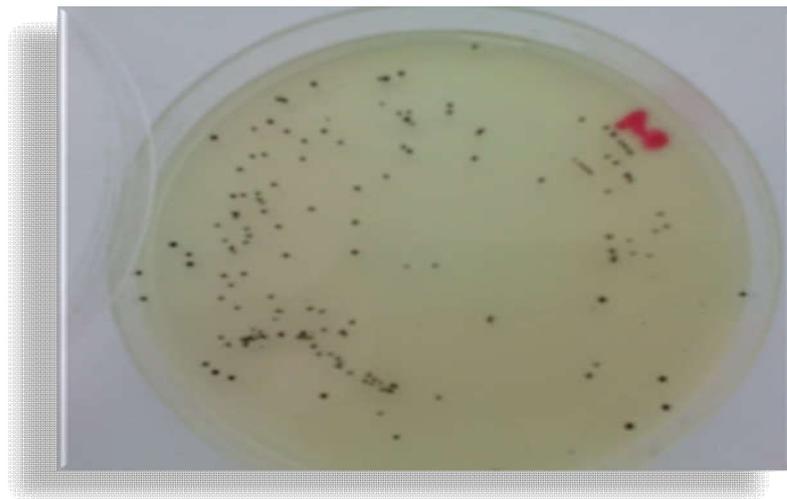


Figure 16. Aspect des colonies du lait cru sur BP

Les colonies noires qui sont ensemencées sur gélose Chapman ont montré la présence de colonies blanchâtres.

Les boîtes contenant du lait pasteurisé reste stériles, ce qui signifie que ce type du lait est dépourvu de ces bactéries. Selon le JORA (1998), la norme exige l'absence totale des *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et ne dépasse pas 1 UFC/mL dans le lait pasteurisé. La caractéristique de colonies typiques est la présence de zone transparente autour de la colonie noire.

Le milieu BP est destiné à la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus*, il contient une base nutritive riche et des facteurs de croissance : le pyruvate de sodium et le glycolle en plus de deux inhibiteurs : le chlorure de lithium et le tellurite de potassium. Trois critères de différenciation sont recherchés : la réduction du tellurite en tellure noir, la protéolyse des protéines de jaune d'œuf qui traduit par la formation par un halo clair autour de la colonie et l'hydrolyse par une lécithinase des lécithines du jaune d'œuf traduit par une limite blanche opaque autour de la colonie (Guillaume, 2004).

Les colonies de *S. aureus* présentent un aspect caractéristique après 24 heures d'incubation à 37°C, La plupart des autres espèces de *Staphylococcus* sont inhibées ou ne produisent pas de colonies d'aspect caractéristique en 24 heures. D'autres germes comme *Micrococcus*, *Bacillus*, et quelques levures peuvent croître sur ce milieu sans être inhibés mais leurs aspects macroscopiques sont différents de celui de *S. aureus* (après 24 heures) (URL 5).

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles (ou halotolérantes). Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif. Les *Staphylococcus aureus* donne des colonies pigmentées en jaune (mannitol +) (Guillaume, 2004).

Dans notre cas un seul caractère des trois caractères de BP a été détecté qui est la réduction du tellurite, de ce fait l'aspect des colonies sur BP, la culture sur milieu Chapman ont conclu que les colonies poussées sur BP n'ont plus de *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats ont été interprétés par l'absence de *staphylococcus aureus* dans tous les échantillons analysés du lait cru et pasteurisé. Le même résultat est obtenu par plusieurs chercheurs (Debouz et al., 2014; Ouled Laid et Bedda, 2004; Ben Ramdane et Zerrar, 2011). D'après Bachtarzi (2011) les résultats obtenus sont très variables, ils présentent une moyenne de $37,6.10^2$ UFC/mL, avec une valeur maximale de $2,60.10^4$ UFC/mL. Ghazi et Niar (2011) a reporté que seulement 28 échantillons sur les 155 analysés, soit 18% ne présentaient pas de contaminations par les staphylocoques. Les résultats obtenus par Hamiroune et al. (2014) présentent une moyenne de $0,9 10^3$ UFC/mL, la fréquence des résultats supérieurs au critère légal est de 17,7 % contre 82,3 % des laits analysés conformes.

S. aureus contamine le lait soit par excrétion directe des mamelles d'animaux atteints de mammites ou par l'environnement lors de la manipulation et de la transformation du lait cru (Afif *et al.*, 2008 In hamiroune *et al.* (2014).

2.6. Recherche de Clostridie sulfito-réducteurs

Une seule colonie de clostridie sulfito-réducteurs a été détecté dans l'échantillon E5 du lait cru (Figure 18), ce qui correspondant au 10 UFC/mL. Les autres échantillons sont dépourvus de ces bactéries. Le critère algérien concernant ces bactéries étant fixée à 50 germes/mL (JORA, 1998). Nos résultats montrent que tous les échantillons du lait cru sont conformes aux normes.

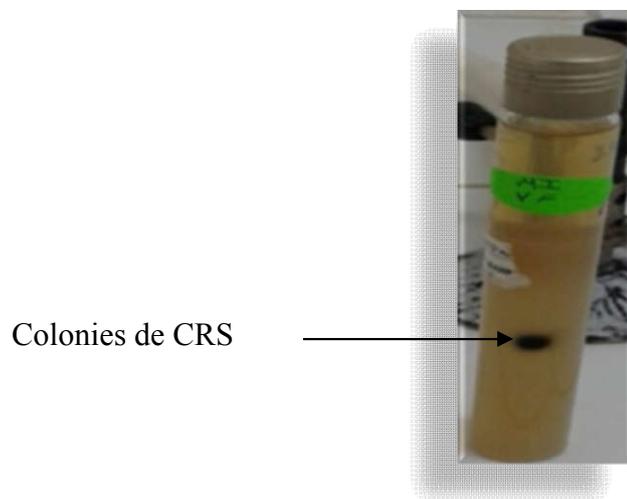


Figure 17. Dénombrement CRS

Les résultats de Hamiroune *et al.* (2014) affirme que la charge moyenne des laits crus analysés en clostridium sulfito-réducteurs est de $2,7 \cdot 10^1$ UFC/mL, ils ont constatés que celle-ci dépasse les normes dans 12,0 % des échantillons analysés.

Le lait est un vecteur fréquent des bactéries appartenant au genre *Clostridium*. Elles sont présentes dans les aliments des animaux (aliments qui ont été en contact avec de le sol) et contaminent le lait directement ou par l'intermédiaire des fèces. 16 à 18% des échantillons de laits contiennent des spores d'anaérobies. Mais les nombres moyens de spores ainsi relevés sont toujours faibles: 1 à 10 spores par millilitre, avec des variations saisonnières dépendant de l'alimentation et de l'hygiène de la traite. Heureusement, dans les conditions normales d'utilisation, le lait n'offre pas en général un milieu propice au développement des *Clostridium*, en raison de son potentiel d'oxydo-réduction trop élevé (Cerf et Bergere, 1 968).

La gélose Viande-Foie est recommandée pour la recherche et le dénombrement de spores de *Clostridia* sulfito-réducteurs dans les produits alimentaires (Alleux, 2010).

Les bactériologistes ont réussi à mettre au point divers milieux fortement sélectifs, aussi bien pour les spores que pour les cellules végétatives de *Cl. perfringens*. Le milieu de Wilson et Blair est à base d'extrait de viande, de peptone et de glucose et contient du sulfite de sodium et un sel de fer. Les colonies des bactéries qui réduisent le sulfite s'entourent d'un halo noir de sulfure de fer, ce milieu permet donc de dénombrer des bactéries « sulfito-réductrices », principalement des *Clostridium* mais aussi des *Bacillus*, des entérobactéries. Ce milieu, puisqu'il contient du sulfite est réducteur, et son emploi est relativement simple. Cependant, s'il contient trop de glucides, son pH s'abaisse rapidement, le sulfite se solubilise et tout le milieu se colore en noir (Mossel, 1968). C'est pourquoi on compte les colonies après une incubation de 24 h seulement à 37° C. Celles dont le diamètre est supérieur à 3 mm sont formées par des bactéries qui appartiennent en principe à l'espèce *Cl. perfringens* (Cerf et Bergere., 1968).

Malgré l'importance que revêt la numération de certains *Clostridium* dans les produits alimentaires et en particulier dans le lait et les produits laitiers, on constate malheureusement que sauf pour *Cl. perfringens*, il n'existe pas de milieux sélectifs. Cela complique beaucoup la numération des spores et rend pratiquement impossible la numération des cellules végétatives.

L'espèce *C. perfringens* a un métabolisme anaérobie strict mais aérotolestants. Ces bactéries sporulent rarement dans les milieux de culture ordinaire, uniquement dans des milieux spéciaux de sporulation, mais sporulent assez facilement dans un milieu naturel (intestin, sol). Les cultures sont très gazogènes, et les sulfites sont réduits (colonies noires en présence de sulfite de sodium et d'alun de fer). *C. perfringens* est glucidolytique (acidification notamment du glucose, lactose, et maltose) et protéolytique. Cette bactérie produit et secrète de nombreuses toxines et enzymes hydrolytiques dont l'entérotoxine, responsable de l'intoxication alimentaire, qui contrairement aux autres toxines de *C. perfringens* n'est synthétisée qu'au cours de la sporulation.

La contamination du lait des bovins peut être due à plusieurs facteurs tels les mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite ou de la conservation qui entraînent une contamination du lait et les fortes températures dans les zones arides et semi-arides favorables à la croissance bactérienne (Cerf et Bergere., 1968).

II. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques

II.1. Caractères organoleptiques

Le lait de vache est de couleur blanchâtre pour la plupart des échantillons. Les résultats obtenus montrent que tous les échantillons n'ont pas une odeur caractéristique, et cinq échantillons parmi sept ont une saveur douce et normale. En revanche, les échantillons E5 et E6 présentaient un goût un peu amer, et l'échantillon E'1 a un aspect mouillant.

II.2. Caractères physico-chimiques

Le Tableau IX regroupe les résultats relatifs aux caractéristiques physico-chimiques de sept échantillons de lait cru analysés.

Tableau IX. Principaux caractères physicochimiques des laits crus

Echantillon	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
Densité	1,034	1,034	1,032	1,033	1,032	1,030	1,035
Ph	6,5	6,45	6,33	6,40	6,25	6,26	6,29
Acidité dornic D°	17,4	16,5	18	17,5	17,8	16,2	17,5
lactose g/L *	51,9	53	52,1	52,2	52,25	52,5	51,8
Teneur en Protéine g/L *	35,7	36,6	35,7	35,8	36,1	35,8	35,5
Matière grasse g/L*	30,2	37,7	34,6	27,4	33,2	27,1	28,1
Extrait sec total g/L	124,1	134	129,5	98,7	99,6	121,8	121,9
Extrait sec dégraissé g/L	93,9	96,3	94,9	71,3	66,4	94,7	93,8
Matière grasse % (butyromètre) dans 10 mL du lait	2,9	3,7	3,4	3	3,2	2,6	2,7
Minéraux g/L *	7,3	7,4	8,7	7,8	7,6	7,7	7,8
Point de congélation °C*	-0,549	-0,566	-0,545	-0,547	-0,556	-0,548	-0,544
Conductivité mS*	28,37 à 34,22°C	31,69 à 34,06°C	32,22 à 33,81°C	30,13 à 34,66°C	29,55 à 34,56°C	29,92 à 34,37°C	30,09 à 34,69°C

* : tests réalisés par Lactostar

Le Tableau X regroupe les résultats relatifs aux caractéristiques physico-chimiques des sept échantillons du lait pasteurisé analysés.

Tableau X. Principaux caractéristiques physicochimiques des laits pasteurisés

Echantillon	E'1	E'2	E'3	E'4	E'5	E'6	E'7
Densité	1,031	1,031	1,032	1,031	1,032	1,030	1,035
Ph	6,20	6,34	6,31	6,14	6,4	6,41	6,33
Acidité dornic D°	16	15,5	17	17,1	18	15,8	17
lactose g/L *	48,1 g/l	52 g/l	53,3g/l	54,9 g/l	53,8	54,3	56
Teneur en Protéine g/L *	32,8 g/l	36,2 g/l	36,7 g/l	37,8	36,9	37,3	38,5
Matière grasse g/L*	19,6 g/l	33,5 g/l	34,8 g/l	32,1	31	31,1	32,7
Extrait sec total g/L	106	128,2	130,5	131	101,2	102,4	134,6
Extrait sec dégraissée g/L	86,4	94,7	95,7	98,9	98,2	70,2	101,9
Matière grasse% (butyromètre) dans 10 mL du lait	1,8	3,2	3,3	3,1	3	3	3,2
Minéraux g/L *	8 g/l	7,6 g/l	7,5 g/l	7,3	7,5	7,9	7,3
Point de congélation °C *	-0,491	-0,556	-0,568	-0,581	-0,566	-0,570	-0,590
Conductivité mS *	34,24 à 34,07° C	29,33 à 34,70°C	31,05 à 34,72° C	28,37 à 36,04°C	29,08 à 34,66°C	30,54 à 34,01° C	28,19 à 34,46°C

* : tests réalisé par Lactostar

II.2.1. pH

Le pH des échantillons du lait cru varie de 6,25 à 6,5, et de 6,20 à 6,41 pour les échantillons du lait pasteurisé. D'après Vignola (2002) le pH du lait frais se situe entre 6,6 et 6,8. Nos échantillons de deux types du lait ont un pH inférieur à ce taux ce qui les rend un peu acides (ou légèrement acide). (Vignola, 2002) considère que contrairement à l'acidité titrable, le pH ne mesure pas la concentration des composés acides mais plutôt la concentration des ions H⁺ en solution. Les valeurs de pH représentent l'état de fraîcheur du lait. Un lait ayant une acidité développée importante aura

un pH plus bas que 6,6. Il constate aussi que si par exemple un lait a un pH égale à 6,4 avec une acidité de 18 D° ce lait ayant donc une acidité développée, dans un état de fraîcheur douteux, et c'est parfaitement le cas d'échantillon E'5.

II.2.2. Acidité titrable

L'acidité des sept échantillons de lait cru varie de 16,2 à 18 D° et de 15,5 à 18 D° pour le lait pasteurisé. Nous avons remarqués une légère diminution de l'acidité après la pasteurisation, ce qui peut être dû à la réduction des bactéries lactiques par l'effet de la température. L'acidité de nos échantillons est globalement acceptable pour les deux types du lait selon la norme qui fixe un taux d'acidité entre 15 et 18 D° (Conte, 2008 *In* Debouz et Guerguer, 2013). Dès sa sortie du pis de la vache, le lait démontre une certaine acidité, qui est due principalement à la présence de protéines et certains minéraux et d'acides organiques (Vignola, 2002). Cette acidité primaire s'appelle l'acidité naturelle du lait avec une faible concentration d'acide lactique, une autre acidité appelé acidité développée due au développement des bactéries lactiques qui fermentent le lactose.

II.2.3. Densité

La densité mesurée à 20°C est de 1,030 à 1,035 pour les échantillons du lait cru et lait pasteurisé, respectivement (Tableau IX, X). Nous avons remarqués que la densité est modérément diminuée après la pasteurisation des échantillons E1, E2 et E4, mais aucune modification n'a été signalée pour les autres échantillons. La norme de la densité du lait selon (Vignola, 2002) varie de 1,028 à 1,035 pour une moyenne de 1,032, ce qui signifie que nos résultats pour les deux types du lait sont conformes à la norme. (Vignola, 2002) a constaté que chacun des constituants agit sur la densité du lait; il a constaté également que la MG est le seul constituant qui possède une densité inférieure à 1. Par conséquent, plus un lait (ou un produit laitier) contient un pourcentage élevé en MG plus sa densité sera basse. Il est à signaler aussi qu'un écrémage du lait augmentera sa densité et qu'un mouillage ou une addition d'eau la diminuera.

II.2.4. Matière grasse (MG)

La teneur en matière grasse (MG) varie entre 28,1 et 37,7 g/L soit un pourcentage de 2,7 à 3,7 % pour les laits crus, (Tableau IX), et entre 19,6 et 34,8 g/L soit un pourcentage de 1,8 à 3,3 % pour les laits pasteurisés (notant que le lait pasteurisé est un lait entier). Les variations liées à ce

taux sont relativement faibles, elle est progressive pour E4, E6, E7 et descendante pour E3, E2, E5. Sauf pour l'échantillon E1 où nous avons observés une diminution remarquable allant de 30,2 vers 19,6 g/L.

Selon Renard (2014), le taux de la MG dans le lait entier du bovin est de 37 g/L, ce qui fait uniquement deux échantillons du lait cru qui sont proches aux normes (E3 et E5), et un échantillon (E2) qui est totalement conforme; les autres échantillons analysés ont un taux inférieur de MG. (Vignola, 2014) a déterminé un pourcentage de la MG qui doit être égale à 3,7 %. Il a affirmé que la MG peut se dégrader par la lipolyse, qui est une réaction enzymatique catalysée par la lipase, cet enzyme est naturellement présente dans le lait ou peut être développée par les bactéries. Elle dégrade le lait lorsqu'elle en trop grande quantité. La lipolyse consiste donc à dégrader les triglycérides. Les acides gras ainsi libérés, particulièrement ceux à courte chaîne, sont responsables de l'apparition du goût rance que peut prendre le lait. Parmi ces causes se trouve la forte contamination du lait par les microorganismes psychrotrophes qui produisent de la lipase microbienne. La pasteurisation normale suffit à détruire la lipase naturelle, par contre celle d'origine microbienne sont souvent plus résistante à la chaleur.

Nos résultats ont montrés que les échantillons ayant un taux de MG au-dessous des normes ont une charge microbienne significative de FTAM, ou nous avons supposés l'existence de microorganismes psychrotrophes qui peuvent être développées pendant la conservation au froid ou par d'autres causes cités par (Vignola, 2002).

II.2.5. Teneur en protéines

La teneur en protéine, respectivement dans le lait cru et pasteurisé, varie entre 35,5 et 36,6 g/L (Tableau IX), et de 32,8 à 38,5 g/L. Les variations liées à ce taux sont relativement faibles entre les échantillons du lait de même type. (Renard, 2014) considérait une teneur moyenne en protéines qui est de l'ordre de 34 g/L, ce qui correspond à peu près de nos résultats. L'interprétation de la stabilité des protéines au cours de la pasteurisation est expliquée par le fait que ce procédé thermique (la pasteurisation) ne semble pas affecter les propriétés nutritionnelles des protéines de lait. Par contre, des traitements thermiques plus élevés, comme la stérilisation UHT, peuvent dénaturer les protéines. Ces dénaturations sont en fonction de la température et le temps d'application du traitement thermique.

La concentration des protéines laitière varie aussi selon la saison, le stade de lactation et le nombre de mises en bas.

II.2.6. Taux de lactose

Le taux de lactose varie de 51,8 à 53,0 g/L pour les échantillons du lait cru et de 48,1 à 56,0 g/L pour ceux du lait pasteurisé. Leur norme est de 50 g/L (Debouz *et al.*, 2014), ce qui montre que les résultats obtenu sont conforme à la norme.

II.2.7. Extrait sec total et Extrait sec dégraissée

L' des échantillons du lait cru et pasteurisé, respectivement est vari de 98,7 à 134 g/L et de 101,2 à 134,6 g/L, les normes considèrent un taux de 128 g/L (Courtet Leymarios, 2010). Les résultats obtenus pour les échantillons de deux types du lait sont proches de cette norme pour la majorité des échantillons. Et celle de ESD varie de 66,4à 96,3 g/L pour les laits crus et de 70,2 à 101,9 g/L pour le lait pasteurisé. La diminution de la matière sèche dans certains échantillons pourrait être expliquée par la diminution du taux de MG.

II.2.8. Concentration des minéraux

Le taux de sels minéraux varie de 7,3 à 7,8 g/L pour les échantillons du lait cru et de 7,3 à 8,0 g/L pour les échantillons du lait pasteurisé. La norme en vigueur est de 7,2 g/L (Courtet Leymarios, 2010). Nous avons remarqués que le taux de sels après la pasteurisation est stable, et que ces valeurs sont proches de la norme.

II.2.9. Point de congélation (PC)

Le point de congélation varie de -0,566 à -0,544 °C pour les échantillons du lait cru et de -0,590 à -0,491 °C. Selon (Vignola, 2002) ce point peut varier de -0,530 à -0,575 °C avec une moyenne de -0,555 °C. Un point de congélation supérieur à -0,530 °C permet de soupçonner une addition d'eau

au lait. Nos résultats sont comprises entre les normes sauf pour un seul échantillon, il s'agit du lait pasteurisé E'1 qui a un PC égale à -0,491 cela traduit l'aspect mouillant de cet échantillon.

II.2.10. Conductivité

Nous avons mesuré la conductivité des laits crus à une température moyenne de 34,33 °C, où elle est comprise de 28,37 à 32,22 mS et de 28,37 à 34,24 mS à une température moyenne de 34,66 °C pour le lait pasteurisé. Il est remarquable que la conductivité du lait varie largement en fonction de température. La norme en vigueur pour le lait bovin est de l'ordre de 27.39 mS à 31°C (Vignola, 2002).

Conclusion



Conclusion

L'évaluation de la qualité microbiologique du lait cru et pasteurisé pris de plusieurs laiteries de la Wilaya de Ghardaïa, a montré une qualité microbiologique généralement acceptable dont tous les échantillons analysés. Les deux types du lait étaient dépourvus de germes pathogènes redoutables (*S. aureus* et *Clostridium* sulfito-réducteurs). Pour les taux en FTAM, seulement deux échantillons du lait cru ont présenté une valeur conforme aux normes, tandis que les autres ont été fortement contaminés. Pour ceux du lait pasteurisé, ont montré un taux qui dépassant les normes. Quant au dénombrement des coliformes, les échantillons du lait cru ont montré une charge bactérienne importante qui dépassant 10^3 pour la majorité d'entre eux. Par contre, ceux du lait pasteurisé, une absence de coliformes a été enregistrée sans la majorité d'échantillons analysés.

La qualité microbiologique du lait cru a montré une forte contamination d'origines fécale d'où la prédominance de germes d'altération de la qualité organoleptique du lait. Celle du lait pasteurisé est assimilable pour la flore mésophile aérobie mais dépourvu de coliformes, ce qui indique une qualité mieux.

Au sujet de l'analyse physico-chimique des deux types du lait, la valeur de pH était légèrement acide pour les deux types (entre 6,2 et 6,5). Les autres paramètres ont montrés une qualité physico-chimique globalement acceptable pour les deux types de lait analysé, et sont conforme aux normes du journal officiel algérien.

Les origines de la contamination du lait sont multiples et débutent de la traite jusqu'à sa consommation donc, il faut donner assez d'importance au procédé de traite, de réception du lait, de pasteurisation adéquate, de stockage et de bonne conservation. La désinfection du matériel et une hygiène de la traite aussitôt suivie d'une réfrigération du lait réduirait la contamination. Le respect des délais d'attente et un contrôle plus rigoureux du marché des produits permettraient de réduire le taux des résidus. La présence de bactéries pathogènes et des résidus devra être examinée dans une perspective d'analyse du risque encouru par le consommateur. L'intervention concertée des différents acteurs de la filière prenant en considération leurs besoins respectifs et combinée à des mesures incitatives pourrait améliorer la qualité.

La sensibilisation des éleveurs et les collecteurs est souhaitable à fin de s'assurer de meilleurs conditionnement aux filières laitières.

En fin, nous souhaitons préparer un guide de bonne pratique d'hygiène pour les laiteries afin de minimiser les risques de contamination bactérienne.

Références bibliographiques

BIBLIOGRAPHIE

- Alleux, Z.A.** (2010). Gélose Viande Foie. Fiche technique. Accès <http://www.indicia.fr>. Pdf.
- Arrada, S. et Beggah, F.** (1998). Contribution à l'étude microbiologique du lait pasteurisé conditionné. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de technicien supérieur en industrie alimentaire. Université de Constantine, Algérie.
- Bachtarzi, N.** (2011). Qualité microbiologique du lait cru destinier à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en sciences alimentaires. Université de Constantine, Algérie.
- Badio, M.** (2000). La qualité du lait et produits laitiers. Communication à l'atelier de restitution de l'étude sur la filière lait au Sénégal. GRET / ENDA-GRAF Dakar.
- Beerens, H. et Luquet, F.M.** (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Ben Ramdane, E. et Zerrara, M.** (2011). Contrôle microbiologique du lait cru et lait pasteurisé à l'usine de Milkina « KHERFI ». Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de technicien supérieur en contrôle de qualité et de l'industrie alimentaire. Centre de formation professionnelle et l'apprentissage, Ghardaïa
- Bernard, J.** (2014). À propos du lait cru. Rapport de la Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement du Service public de Wallonie. Pp. 15, 16, 17.
- Bouix, M. et Leveau J. Y.** (1988). Les microflores responsables des transformations ; In : techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA : le contrôle microbiologique. Vol. III, Tec. Et Doc, Paris.
- Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M.-L., Collette, C., Garin-Bastuji, B et Thorel, M.F.** (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe, Centre national d'études vétérinaires et alimentaires, Paris, 43, rue de Dantzig, 75015 Paris, France, Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (1), P 452-471

- Camille, D.** (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire (recherche de bactérie). Edition Céline poiteaux, Lavoisier, Paris. p15. 425-651
- Cécile, L.** (2011). Microflore du lait cru, réalisé dans le cadre du RMT ;(Filières fromagères valorisant leur terroir). Institut de l'élevage.
- Cerf, O. et Bergere, J.L.** (1968). La numération des spores de *clostridium* et son application au lait et aux produits laitiers. II. Numération des groupes du *clostridium*. HAL.48 (478), pp. 501-519.
- Chetouna, F.** (2011). Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologiques du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. Université d'Ouargla, Algérie.
- Chillet, P.** (2011). La pasteurisation (aspect technologique) partie I. BioTech, Tome 2. Ed, CRDP d'Aquitaine. Burdeaux, France 10p.
- Cuq, J.L.** (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
- Debuyser, M. L.** (1991). Méthodes d'évaluation des microflores à incidence sanitaire: les staphylocoques coagulase + In : techniques d'analyse et contrôle dans les IAA, Le contrôle microbiologique, Tec. & Doc., Vol.3 : 2 ème Ed, Lavoisier. Paris.
- Dellaglio, F., Roissard, H., Torriani, S., Curk, M.C. Et Janssens, D.** (1994). Bactéries lactiques. Vol 1. De Roissard H et Luquet FM (éd.). Lorica: Uriage. pp : 25-116.
- Dieng, M.** (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industrielles commercialisés sur le marché Dakarais Th. Med. Vet. n°10, Dakar, Sénégal, 111p.
- FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine (consommation, technologie et microbiologie). Collection FAO Alimentation et nutrition n°28. Rome, Italie. pp : 99-104, 108.
- Fidjel, Y.** (2014). Diagnostic pour la mise en place d'une démarche qualité dans la laiterie ENNADJAH-MAGHNIA. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en agronomie. Tlemcen, Algérie.

- Ghaoues, S.** (2010). Évaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est algérien. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. Constantine, Algérie.
- Ghazi, k et Niar, A.** (2011). Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultra*, 29, 193-196.
- Guillaume, P.Y., Darinot. I. et Sercenton, V.** (2004). La microbiologie : Les milieux de culture en boîtes et en tubes. Accès <http://www2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html>
- Guiraud, J.P.** (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.
- Hamiroune, M., Berber, A. et Boubkeur, S.** (2014). Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendue dans les régions de Jijel et Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Ann. Méd. Vét.*, 158, 137-144.
- Hermier,J., Lenoir, J. et Weber, F.** (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed, CEPIL. France. 568 p.
- Institut de l'élevage.** (2009). Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1ère Edition France Agricole. Produire mieux. France. pp : 55-506.
- Jeanet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P. Et Brule, G.** (2008). Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).
- Jones, D.** (1978). Composition and differentiation of the genus *Streptococcus*. In : *Streptococci* (Skinner F.H. & Quesnel L.B., eds) Academie Press, London. pp:1-491
- JORA.** (1998). Critères Microbiologiques des laits et des produits laitiers. *Journal Officiel de la République Algérienne*, n° 35.
- Kagembega, J. M.** (1984). Contribution à l'étude de la salubrité des laits caillés et yaourt à Dakar. Th. Pharm., Dakar, n° 24.
- Kebchaoui, J.** (2012). Le lait : compositions et propriétés. Coopération universitaire entre la faculté poludisciplinaire de Taroudant (Maroc) et l'ENIL Mamrolle région de Franche Comte (France), Novembre 2012. France.

- Leymarois, F. C.** (2010). Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ces acides gras : Voies d'amélioration par l'alimentation. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de doctorat vétérinaire. D'alfort.
- Leyral, G. et Vierling, É.** (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. 87p.
- Martin, J.** (2007). Germes aérobies mésophiles. Document de service de la consommation et des affaires vétérinaires. Fichepca.doc.Neuchâtel.
- Mekroud, H.** (2010). Effet de la température sur la production laitière dans la région de Sétif. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. Sétif, Algérie.
- Membre de Groupes Scientifiques sur l'eau de l'institut nationale de santé publique du Québec.** (2015). Coliformes Fécaux. Accès. <https://www.q.qc.ca/eau-potable/coliformes-fecaux>
- Monsallier, G.** (1994). Maîtrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait à la production. Rec. Méd. Vét., 170, 411-418.
- Ndao, s.** (1996). Contribution à l'étude de la contamination des laits caillés artisanaux sénégalais par les staphylocoques présumés pathogènes. th. méd. vét., dakar, n° 18, 61 p.
- Ouled Laid, M et Bedda, M.** (2004). Contrôle microbiologique du lait pasteurisé à l'usine d'EL ALLOUANI SAID –Ghardaïa. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'Etudes supérieures en Biologie, Université de Ouargla, Algérie.
- Oura, F.Z et Boukhezza, I.** (2015). Evaluation et suivi de qualité bactériologique du lait camelin cru (collecté localement) lors de sa transformation en fromage. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master, université d'Ouargla, Algérie.
- Rahli, F.** (2015). Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactique. Thèse de doctorat, université d'Oran 1, Algérie.
- Semasaka, G.** (1986). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés commercialisés dans la région de Dakar (Sénégal). Thèse de doctorat. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires. Université de Cheikh Anta Diop, Dakar.

Service Agrolevage. (2011). Lait pasteurisé, stérilisé et U.H.T. Accès <http://agrolevage.blogspot.com/2013/10/lait-pasteurise-sterilise-et-uht.html>

Service de Bactériologie. (2002). Les Streptocoques, Enterocoques et Pneumocoques. In Université de Pierre et Marrie Curie, Bactériologie. pp. 37. Accès <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.4.html>

Sobhash, C. P. (2009). Text book of microbiology and immunology part of colifirms. Ed, Elsevier. India. 260 p.

Varnam, A.H. et Sutherland, P. (2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.

Vignola, C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 5, 15, 17, 26.

Wisman, D. W. et Applebaum, T. (1980). Distribution and resistance to pasteurisation of aflatoxin MI. In naturally contamination, whole milk, cream and skim milk. Journal of food prod, 46, 530-532.

URL 1: https://fr.wikipedia.org/wiki/Milieu_VRBL

URL2[https://fr.wikipedia.org/wiki/Lactos%C3%A9_bili%C3%A9_au_vert_brillant/_cloche_\(BL_BVB\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Lactos%C3%A9_bili%C3%A9_au_vert_brillant/_cloche_(BL_BVB))

URL 3: (fr.wikipedia.org/wiki/Milieu_de_Rothe)

URL 4: [https://fr.wikipedia.org/wiki/BEA_\(g%C3%A9lose_Bile_Esculine_Azide\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/BEA_(g%C3%A9lose_Bile_Esculine_Azide))

URL 5: https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose_Baird_Parker

Annexee

Annexee

Annexe

Annexe 01 : Formules des milieux de cultures et leurs préparation**1. Tryptophane Sel Eau**

Milieu de pré-enrichissement utilisé avant l'enrichissement sélectif lors de la recherche des Salmonella dans les aliments.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Tryptone	10,0
Chlorure de sodium	5,0
Eau	1000 mL
pH 7,2 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 25 litres de milieu.

PREPARATION

Verser 20 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et répartir. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.

2. Gélose au lait écrémé

La gélose au lait écrémé est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries dans le lait, les produits laitiers et les glaces.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone de caséine	5,0
Extrait de levure	2,5
Gélose	1,00
Lait écrémé	1,00
Agar	12,0
pH 7,4 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 13 litres de milieu.

PREPARATION

Mettre en suspension 22 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute. Répartir en tubes ou flacons. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

3. Gélose VRBL

Milieu sélectif contenant du lactose pour l'isolement et la numération des coliformes dans l'eau, les produits alimentaires et laitiers.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Extrait de levure	3,0
Peptone	7,0
Chlorure de sodium	5,0
Sels biliaires n°3	1,5
Lactose	10,0
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,002
Agar	12,0
pH 7,4 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 13 litres de milieu.

PREPARATION

Verser 38,5 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Bien mélanger et répartir.

4. Bouillon BLBVB

Ce milieu est utilisé pour rechercher ou confirmer la présence de coliformes. Le vert brillant inhibe les germes anaérobies fermentant le lactose comme *Clostridium perfringens*, et le milieu est recommandé pour le test de confirmation à 44°C d'*Escherichia coli*

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone	10,0
Lactose	10,0
Bile de boeuf (purifiée)	20,0
Vert brillant	0,0133
pH 7,4 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 12,5 litres de milieu.

PREPARATION

Verser 40 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Mélanger soigneusement et répartir en tubes avec cloche de Durham. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Le bouillon double concentration ne doit pas être autoclavé. Une autre méthode consiste à chauffer 30 minutes à 100°C le bouillon double concentration dissous.

5. Bouillon de Roth

Milieu pour la détection des streptocoques fécaux.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone	20,0
Glucose	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Hydrogénophosphate de potassium	2,7
Dihydrogénophosphate de potassium	2,7
Azoture de sodium	0,2
pH 6,8 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 14 litres de milieu.

PREPARATION

Verser 35,6 g de poudre dans un litre d'eau distillée pour un bouillon simple concentration ou 71,2 g de poudre pour un bouillon double concentration. Chauffer doucement jusqu'à dissolution complète. Répartir et stériliser à 121°C pendant 15 minutes à l'autoclave.

6. Milieu BEA.

La gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide de sodium (BEA) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et dénombrement des entérocoques dans les produits alimentaires, les produits destinés à l'alimentation animale, et les produits pharmaceutiques. Elle est également utilisée pour le dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux.

Pour 1 litre de milieu :

COMPOSITION	(grammes/litre)
Tryptone^w	17,00
Peptone pepsique de viande	3,0

Extrait autolytique de levure	5,0
Bile de bœuf bactériologique	10,0
Chlorure de sodium	5,00
Ecsuline	1,00
Citrate ferrique ammoniacal	0,50
Azide d sodium	0,15
Agar	13,00
Ph à 25 °C 7,1 ± 0,2	

PREPARATION

Mettre en suspension 54,6 g de milieu déshydraté (BK158) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Répartir en tubes ou en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

7. Gélose Baird Parker.

Milieu sélectif et spécifique qui permet l'isolement et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les aliments.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Tryptone	10,0
Extrait de viande de bœuf	5,0
Extrait de levure	1,0
Pyruvate de sodium	10,0
Glycocolle	12,0
Chlorure de lithium	5,0
Agar	20,0
pH 6,8 ± 0,2	

500 grammes permettent de préparer 7,9 litres de milieu.

PREPARATION

Verser 63 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Laisser refroidir jusqu'à 50°C et ajouter stérilement 50

ml d'émulsion de jaunes d'oeufs avec tellurite (SR0054). Bien mélanger et répartir. Les boîtes de Pétri ainsi préparées doivent être conservées à 2-8°C.

8. Milieu VF

La gélose Viande-Foie complète est recommandée pour la recherche et le dénombrement de spores de Clostridia sulfito-réducteurs dans les produits alimentaires. Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone viande-foie	30,00
Sulfite de sodium	2,50
Glucose	2,0
Citrate ferrique ammoniacal	0,50
Amidon soluble	2,00
Agar	11,00
Ph à 25 °C	7,1 ± 0,2

PREPARATION

Dissoudre 48 grammes dans 1 litre d'eau pure. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension. Répartir 20 ml en tube de 18 x 180 mm. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 2: Mesure de l'acidité titrable.

L'acidité naturelle du lait est attribuable à la présence de caséines, de substances minérales, de traces d'acides organiques et de réactions secondaires dues aux phosphates. L'acidité développée du lait est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans les laits altérés.

Le principe :

L'acidité titrable mesure la quantité d'acide présente dans un échantillon de lait. L'acidité potentielle titrée par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur. On l'exprime en pourcentage d'acide lactique.

Mode opératoire :

- mettre la soude Dornic dans le récipient de l'appareil
- remplir la colonne graduée de soude Dornic.
- prélever 10 mL de lait et placer les dans un Becher
- ajouter 3 gouttes de phénolphtaléine dans le lait
- verser goutte à goutte la soude dans le lait en remuant doucement
- attendre l'apparition d'une coloration rose pâle persistant 10 secondes

Lire sur la colonne : le nombre de dixième de mL de soude versé indique l'acidité du lait en degré Dornic .

L'acidité s'exprime en gramme d'acide lactique par litre du lait. Dans la pratique on utilise souvent le terme « degré Dornic ». Le degré Dornic (°D) est défini comme le volume en dixième de millilitre (1/10) de NaOH (0,11 N) utilisé pour titrer 10 mL du lait en présence de la phénophtaléine. Ainsi 1 °D = 1 mg d'acide lactique dans 10 mL du lait, soit 0,1 g/l ou 0,01 % d'équivalent acide lactique.

Mode de calcul et formule

$$\text{Acidité en g/l} : V_{\text{NaOH}} \times 0,9 \text{ g/l (d'acide lactique)}$$

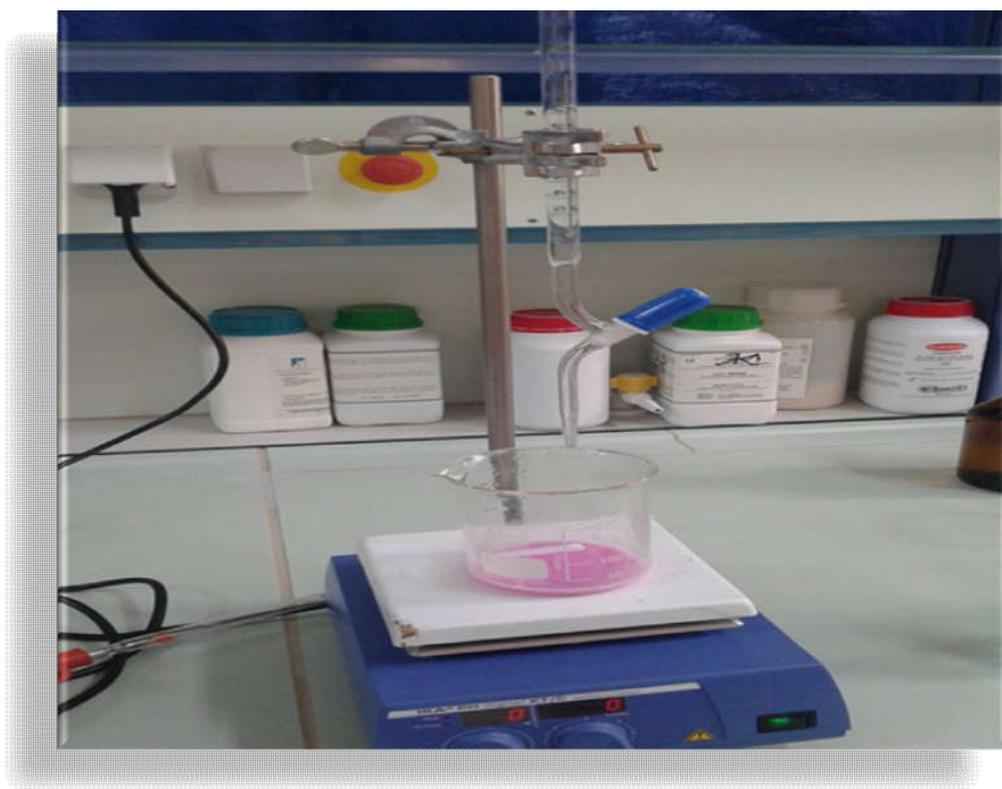


Figure 18. Titration de l'acidité du lait

Annexe 3 : Mesure de la densité

La détermination de la densité se réalise en utilisant un aéromètre spécialement adapté, que l'on appelle lactodensimètre, gradué à la température de 20°C.

Le principe :

La densité est le rapport des masses d'un volume de lait et du même volume d'eau à 20°C. Cette masse résulte des diverses densités des constituants du lait : eau, matière grasse, protéines, sucres, etc. La quantité de ces différents constituants n'étant pas constante, la densité du lait est donc variable. La matière grasse (MG) et la matière sèche dégraissée (MSD) influencent particulièrement les valeurs de la densité.

Mode opératoire :

- homogénéiser l'échantillon de lait
- verser dans une éprouvette de 500 mL
- plonger le thermo-lacto-densimètre avec un moment de rotation
- attendre la stabilité
- la lecture de la valeur de densité se fait au bord supérieur (en fonction de la température).



Figure 19. Mesure de la densité du lait

Annexe 4 : Détermination de la matière grasse.

Les dosages de la matière grasse doivent être commencés le plus tôt possible. La méthode employée pour la détermination de la matière grasse est celle de Gerber. Les résultats sont exprimés par convention en grammes.

Principe: La méthode du Gerber :

Cette méthode est basée sur la dissolution des éléments autres que la matière grasse par de l'acide sulfurique avec addition d'une petite quantité d'alcool amylique qui favorise le rassemblement de la matière grasse.

Procédé opératoire :

- placer 10 mL de lait cru homogénéiser
- ajouter 10 mL d'acide sulfurique dans le butyromètre
- introduire dans le butyromètre en mettant le point de pipette inclinée au contact avec la base du col du butyromètre.
- ajouter 1 mL d'alcool iso-amylique puis boucher le butyromètre
- agiter jusqu'à obtenir un mélange homogène.
- placer dans la centrifugeuse pendant 10 min
- lire directement la valeur de la matière grasse

Expression des résultats :

La teneur en matière grasse de lait = (B-A)

A : lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse.

B : lecture faite à l'extrémité supérieure soit en gramme pour 100 g de la matière grasse.

La teneur en matière grasse est exprimé en g/100 g ou g/L.

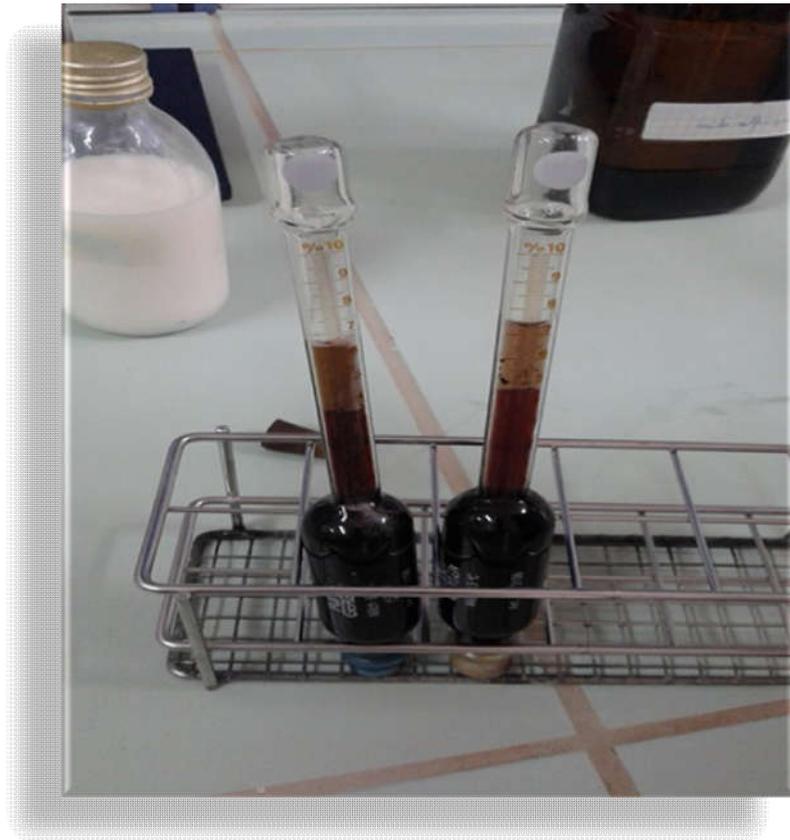


Figure 20. Mesure de matière grasse du lait

Annexe 5 : Détermination de l'extrait sec totale.

Fraction massique des substances restant après la dessiccation du lait.

Le principe :

Le dosage de l'extrait sec du lait est déterminé par évaporation d'une certaine quantité du lait et pesé le résidu.

L'évaporation au bain marie à 70°C puis introduire l'échantillon à l'étuve à 103°C/ 3h après suivi par une dessiccation.

Mode opératoire :

Préparation de la capsule

- chauffer une capsule avec son couvercle posé coté, dans l'étuve pendant au moins 1h. Mettre le couvercle sur la capsule et la placer immédiatement dans le dessiccateur
- laisser refroidir à température ambiante (au moins 30 min) et puis peser.

Prise d'essai

Peser rapidement, 1 g à 5 g (suivant la teneur estimée en matière sèche) de l'échantillon préparé, dans la capsule préparée. Dans le cas du lait ou de la crème, incliner la capsule de façon à étaler la prise d'essai uniformément au fond de la capsule.

Détermination

Placer la capsule, sans le couvercle, sur le bain d'eau maintenu vigoureusement à l'ébullition, de sorte que le fond de la capsule soit exposé de façon maximale à la vapeur et directement chauffé par celle-ci. Laisser la capsule pendant 30 min. Retirer la capsule du bain d'eau et la chauffer, avec son couvercle posé à côté, dans l'étuve pendant 2h. Mettre le couvercle sur la capsule et la placer immédiatement dans le dessiccateur. Laisser refroidir la capsule à température ambiante (au moins 30 min) et peser à 0,1 mg près. Chauffer à nouveau la capsule avec son couvercle posé à coté dans l'étuve pendant 1h. Mettre le couvercle sur la capsule et la placer immédiatement dans le dessiccateur. Laisser refroidir et peser à 0,1 mg près. Répéter les opérations spécifiées jusqu'à ce que la différence de masse entre deux pesées successives ne dépasse pas 1mg. Relever la masse la plus faible.

Expression des résultats

Mode de calcul et formule

La matière sèche, exprimée en pourcentage en masse est égale à :

$$\text{EST} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Où :

m_0 : est la masse, en grammes, de la capsule et du couvercle

m_1 : est la masse, en grammes, de la capsule, du couvercle et de la prise d'essai

m_2 : est la masse, en grammes, de la capsule, du couvercle et de la prise d'essai sèche

Arrondir la valeur obtenue à 0,01% (fraction massique) près.

Annexe 6 : Détermination de l'extrait sec dégraissé.

La matière sèche dégraissée est obtenu par la différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Le lait normal contient habituellement 90 à 95 g de matière sèche non grasse.

Expression des résultats

Mode de calcul

$$\text{ESD} = \text{EST} - \text{MG}$$

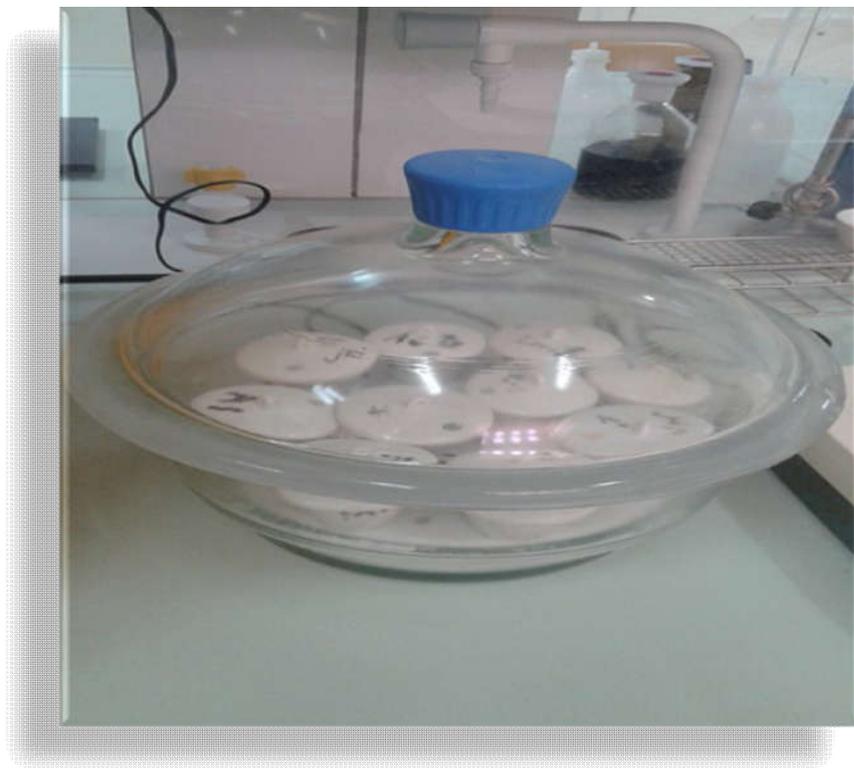


Figure 21. Détermination de l'extrait sec

Annexe 7: Arrêté Algérien Interministériel du 24 janvier 1998.

8	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35	Aouel Safar 1419 27 mai 1998	
ANNEXE I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES			
TABLEAU I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS			
PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 ⁵
— coliformes fécaux	1	—	10 ³
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence